



Kandidaatintutkielma

Suolistomikrobien vaikutus aivojen toimintaan maha-
aivo-akselin välityksellä
Sonja Salmi

Oulun yliopisto
Biokemian ja molekyyli lääketieteen tiedekunta

Käytetyt lyhenteet

3HAH: 3-hydroksiantraniilihappo
5-HT: 5-hydroksitryptamiini/ serotoniini
ACC: asetyylikoentsyymikarboksylaasi
AgSP: agouti-sukuinen peptidi
AHR: aryylihiilivetyreseptori
Akt: proteiinikinaasi B
AMPK: AMP-aktivoituva proteiinikinaasi
AspAT: aspartaattiaminotransferaasi
BAX: Bcl-tekijä
Bcl-2: B-solu lymfooma 2
BDNF: aivoperäinen neurotrofinen tekijä
ES: enterokromaffiinisolu
FFAR2: vapaiden rasvahappojen reseptori 2
FFAR3: vapaiden rasvahappojen reseptori 3
GLP-1: glukagonin kaltainen peptidi 1
HDAS: histonideasetylaasi
HPA: Hypotalamus-aivolisäke-lisämunuais
IDO1: indoliamine-2,3-dioksigenaasi
KAT: kynureniiniaminotransferaasi
KMO: kynureniini-3-mono-oksigenaasi
LKRH: lyhytketjuinen rasvahappo
LPS: lipopolysakkaridi
MCT1: monokarboksylaatti transportteri 1
NMDA: N-metyyli-D-aspartaatti reseptori
NRF2: nuclear factor-erythroid 2 p45 related factor 2
Olfr558: olfaktorinen reseptori 558
Olfr78: olfaktorinen reseptori 78
PI3K: fosfoinositoli 3-kinaasi
POMC: melanocortin precursor pro-opiomelanocortin

PYY: peptidi YY

SPF: specific pathogen free

TDO: tryptofaani-2,3-dioksigenaasi

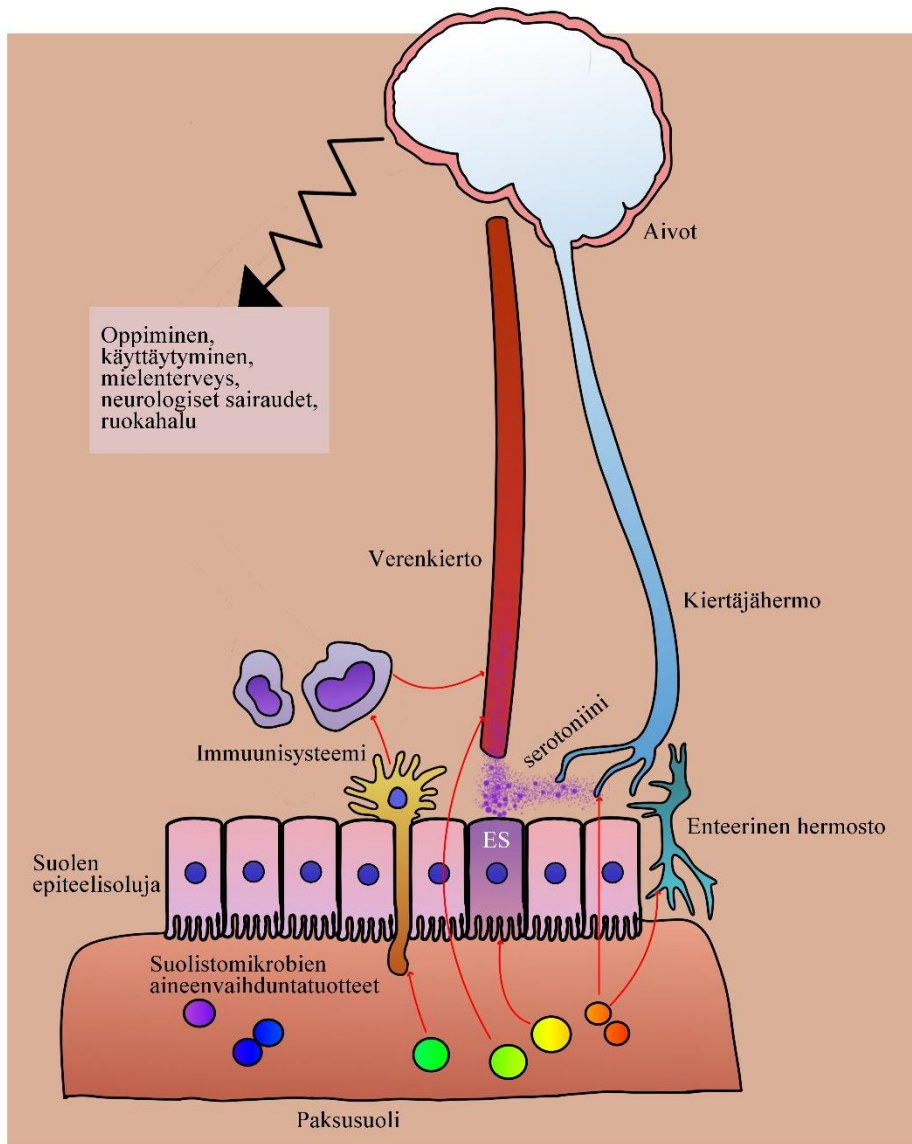
TPH1: tryptofaanihydroksylaasi 1

1. Sisällysluettelo

1.	Sisällysluettelo	1
2.	Maha-aivo-akseli	2
3.	Suolistomikrobit	3
4.	Suolistomikrobien aineenvaihduntatuotteiden vaikutukset maha-aivo-akselissa	4
4.1.	Lyhytketjuiset rasvahapot	4
4.1.1.	Asetaatin vaikutus aivojen toimintaan	5
4.1.2	Propionaatin ja muiden lyhytketjuisten rasvahappojen vaikutus veri-aivoesteeseen	7
4.1.2.	Butyraatti ja butyraattia tuottavien bakteerien vaikutus aivojen toimintaan.....	8
4.2.	Enterokromaffiinisolut suolistomikrobien ja hermoston välissä.....	10
4.3.	Suolistomikrobien vaikutus tryptofaanin aineenvaihduntaan.....	16
5.	Suolistomikrobit ovat osallisena useissa keskushermoston sairauksissa	21
6.	Probiooteista apua moniin sairauksiin?	22
7.	Lopuksi.....	23
8.	Lähteet	24

2. Maha-aivo-akseli

Aivojen ja suoliston välistä kaksisuuntaista kommunikaatiosysteemiä (kuva 1.) kutsutaan maha-aivo-akseliksi (Stephen M Collins et al., 2012). Suolistosta kulkee aivoihin signaaleja, jotka koetaan esimerkiksi pahoinvoinnin, kivun ja kylläisyyden tuntemuksina (Forsythe and Kunze, 2013). Ruuansulatuskanavan ja aivojen kommunikaatio ei ainoastaan varmista ruuansulatuskanavan toiminnan ylläpitoa ja koordinaatiota, mutta on myös vaikuttamassa mielialaan, motivoituneeseen käyttäytymiseen ja korkeisiin kognitiivisiin toimintoihin (Foster et al., 2017).



Kuva 1. Mikrobiomi-maha-aivo-akselin rakenne (Stephen M Collins et al., 2012; Stilling et al., 2016). Suolistomikrobit voivat tuottaa aivoihin yltäviä signaaleja hyödyntämällä immuunisysteemiä, suoliston hormonieristystä, hermostoa ja verenkiertoa. ES: enterokromaffiinisolu, kts. kappale 4.2.

Maha-aivo-akselin kommunikaatiomekanismit voidaan jakaa neuraaliseen ja hormonaaliseen viestintään. Yhtenä kommunikaation muotona toimii mikrobiperäinen viestintä, joka voi

hyödyntää edellä mainittuja kommunikaatioreittejä tai vaikuttaa aivoihin suoraan verenkierron välityksellä (Holzer and Farzi, 2014). Suolistomikrobien ja aivojen välistä kommunikaatiota kutsutaan mikrobiomi-maha-aivo-akseliksi. Maha-aivo-akselin neuraaliset ja humoraaliset signaalintireitit jakaantuvat edelleen eri komponentteihin. Neuraalisiin kommunikaatioreitteihin kuuluvat keskushermosto, autonominen hermosto ja enterinen hermosto. Hormonaaliseen signaalointiin kuuluvat hypotalamus-aivolisäke-lisämunuais-akseli (HPA-akseli), ruuansulatuskanavan hormonitoiminta ja immuunisysteemi (Collins et al., 2012).

3. Suolistomikrobit

Ihmisen suolistossa elää laaja mikrobieliöstö, johon kuuluu bakteereja, arkeoneja, hiivoja ja viruksia (Lozupone et al., 2012). Aikuisen ihmisen suoliston mikrobifloora koostuu usein ensisijaisesti *Bacteroidetes*- ja *Firmicutes* -suvun bakteereista. *Actinobacteria*-, *Proteobacteria*- ja *Verrucomicrobia* – suvun bakteereja esiintyy useilla ihmisillä, mutta näiden bakteerien osuus on suhteellisen pieni (Lozupone et al., 2012; The Human Microbiome Project Consortium, 2012). Suoliston bakteerikanta voidaan myös jakaa kolmeen niin sanottuun enterotyyppiin, joissa joko *Bacteroides*-, *Prevotella*- tai *Ruminococcus* -suvun bakteerit ovat dominoivia (Arumugam et al., 2011).

Suurin osa suolistomikrobeista on isäntäeliölle harmittomia tai hyödyllisiä (Lozupone et al., 2012). Isäntäeliölle hyödyllisten suolistomikrobien ominaisuuksiin kuuluvat mm. mikrobien muodostama suoja patogeenejä vastaan, suolensisäisen epiteelin uusiutumisen stimuloiminen, liman tuottaminen ja limakalvon solujen ravitseminen lyhytketjuisia rasvahappoja muodostamalla. Suolistomikrobit edesauttavat maha-alueen imukudoksen kypsymistä ja synnynnäisen immuunipuolustuksen kehittymistä. Suolistomikrobit parantavat hankitun immuunisysteemin toimintaa stimuloimalla paikallista ja systeemistä immuunivastetta (Wang and Wang, 2016).

Suolistobakteerien vaikutus ulottuu suolistoa laajemmalle alueelle. Suoliston mikrobit vaikuttavat mm. keskushermoston normaaliin kehitykseen, ahdistuneisuuteen, muistiin, stressivasteeseen, aivokemiaan, aivojen kehitykseen, käyttäytymiseen, mielialaan ja motivaatioon. Yhteyksiä löytyy myös sairauksiin, kuten ärtyneen suolen oireryhmään, suolen tulehduksellisiin sairauksiin, masennukseen ja Alzheimeriin. On noussut ajatus, että monia eliöitä ei voida pitää ainoastaan yksilöinä, vaan holobiontteina eli prokaryooteista ja eukaryooteista koostuvina monisoluisina organismeina (Forsythe et al., 2016).

Ruokavalio, tulehdukset, antibiootit ja sairaudet voivat tilapäisesti muuttaa suoliston mikrobikoostumuksen tasapainoa, millä voi olla haitallisia vaikutuksia isäntäeliön hyvinvoinnille (Cryan and Dinan, 2012).

Suolistossa elävät mikrobit voivat hyödyntää maha-aivo-akselin kommunikaatioreittejä ja vaikuttaa aivojen toimintaan (Collins et al., 2012), fysiologiaan, käyttäytymiseen ja kognitiivisiin toimintoihin (Wang and Wang, 2016). Suolistomikrobit voivat kommunikoida aivojen kanssa immuunisysteemin, kiertäjähermon, hormonien, tai tryptofaani-aminohapon aineenvaihdunnan säätelyn kautta sekä mikrobien tuottamien lyhytketjuisten rasvahappojen välityksellä (Kelly et al., 2017).

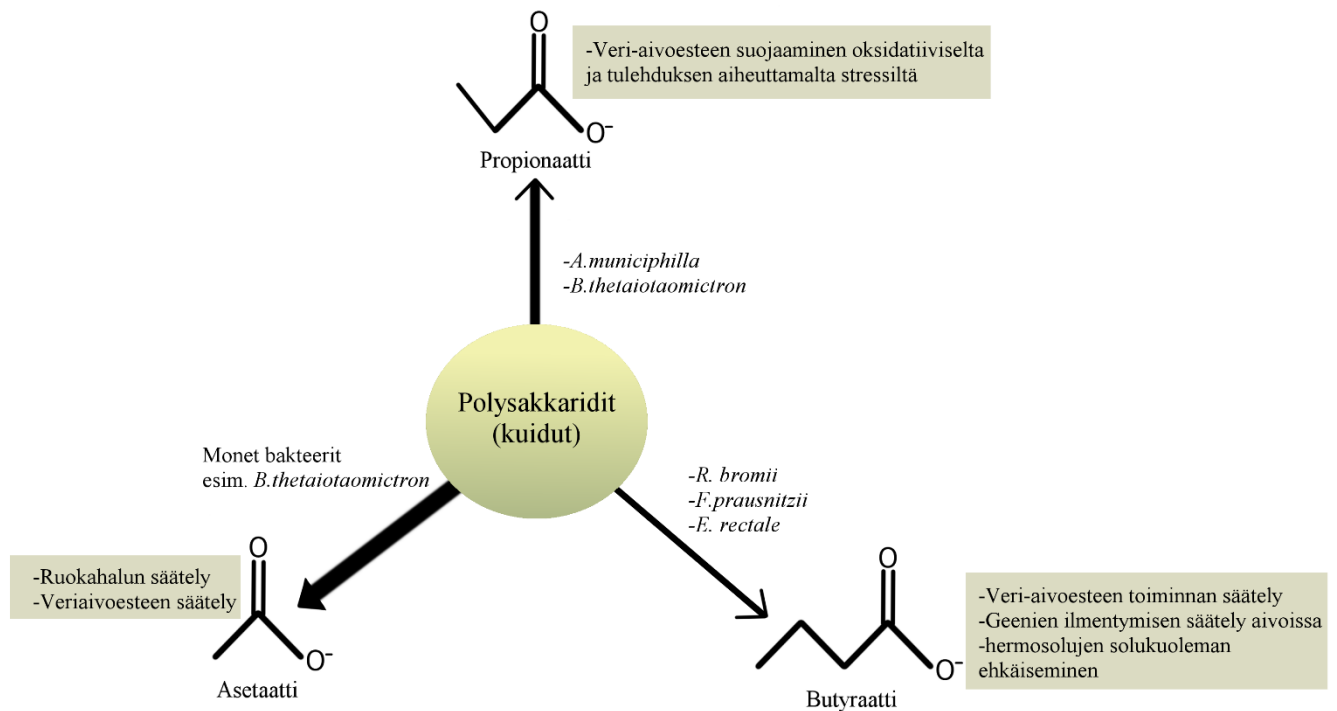
Elimistön ja suolistobakteerien välisen kommunikaation tutkimisessa hyödynnetään mikrobittomissa olosuhteissa syntyneitä ja eläviä koe-eläimiä, joille ei muodostu omaa bakteerikantaa. Koe-eläintutkimukset antavat tietoa neurokemiasta sekä stressiin liittyvästä käyttäytymisestä. Koko elämänsä mikrobittomassa ympäristössä eläneiden koe-eläinten fysiologia ja immuunivaste on erilainen verrokkeihin nähden. Tämän vuoksi tutkimusta on tehty myös aikuisilla koe-eläimillä, joiden mikrobifloora on hävitetty antibiooteilla (Hoban et al., 2016).

4. Suolistomikrobien aineenvaihduntatuotteiden vaikutukset maha-aivo-akselissa

4.1. Lyhytketjuiset rasvahapot

Lyhytketjuiset rasvahapot (LKRH) ovat pienikokoisia, alle kuuden hiilen mittaisia molekyylejä. Lyhytketjuiset rasvahapot ovat suolistomikrobien pääasiallisia aineenvaihduntatuotteita, joita mikrobit muodostavat anaerobisten käymisreaktioiden avulla (Stilling et al., 2016).

Asetaatti, propionaatti ja butyraatti (kuva 2.) ovat yleisimpiä suolistomikrobien tuottamia lyhytketjuisia rasvahappoja, jotka syntyvät käymismenetelmällä kasvisperäisistä polysakkarideista (Miller and Wolin, 1996). Asetaatti kattaa 60% paksusuolen lumenin lyhytketjuisista rasvahapoista. Propionaatin osuus on 25% ja butyraatin 15% (Canani et al., 2011). Asetaattia voivat muodostaa lukuisat bakteerit. Muiden lyhytketjuisten rasvahappojen tuotanto on rajoittunut tietyille bakteerisuvuille. *Akkermansia muciphilla* kykenee tuottamaan propionaattia. Butyraattia muodostavat mm. *Ruminococcus bromii*, *faecalibacterium prausnitzii* ja *Eubacterium rectale* (Morrison and Preston, 2016).

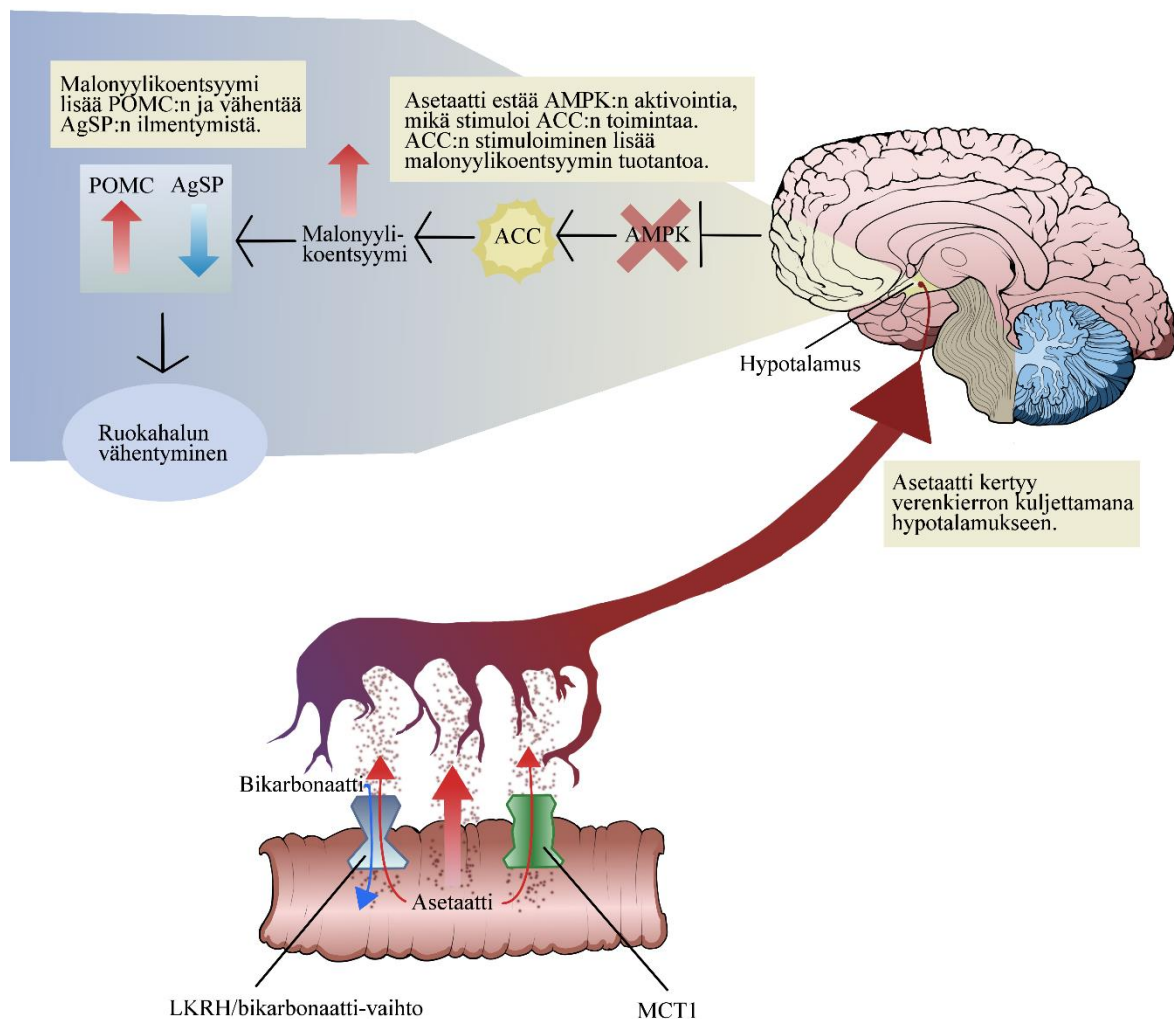


Kuva 2. Yleisimpien suolistomikrobien tuottamien lyhytketjuisten rasvahappojen molekyyli rakenne ja vaikutus aivojen toimintaan. Suolistomikrobit tuottavat eniten asetaattia, propionaattia ja butyraattia, jotka voivat kulkeutua suolistosta veri-aivoesteen läpi aivoihin.

Lyhytketjuiset rasvahapot voivat imeytyä suoliston epiteelin läpi diffuusion, LKRH/bikarbonaatti-vaihdon ja kuljettajaproteiinien kuten monokarboksylaatti transportteri 1:n (eng. monocarboxylate transporter 1; MCT1) välityksellä (Canani et al., 2011). Yli 95% lyhytketjuisista rasvahapoista imeytyy elimistöön ja ne ovat havaittavissa verestä. Asetaatin pitoisuus veressä on 22-45 μM , propionaatin 0,9-1,2 μM ja butyraatin 0.3-1.5 μM (Hoyles et al., 2018).

4.1.1. Asetaatin vaikutus aivojen toimintaan

Asetaatti on yleisin suolistomikrobien polysakkarideista tuottama käymistuote paksusuoleessa. Asetaatti voi liikkua veri-aivoesteen läpi aivoihin, jossa sen on havaittu vaikuttavan ruokahalun säätelyyn (kuva 3.). Asetaattia kertyy erityisesti hypotalamukseen, jossa sen on huomattu lisäävän melanocortin precursor pro-opiomelanocortin (POMC) -nimisen proteiinin ja vähentävän agouti-sukuisen peptidin (eng. agouti-related peptide; AgRP:n) tuottoa, aktivoivan hypotalamuksen kaaritimakkeen neuroneja sekä vähentävän AMP-aktivoituvan proteiinikinaasin (eng. AMP-activated protein kinase; AMPK) toimintaa (Frost et al., 2014).



Kuva 3. Asetaatti kulkeutuu suolistosta diffuusion ja kuljettajaproteiinien välityksellä verenkiertoon. Asetaattia kerääntyy verenkierron mukana hypotalamukseen, jossa se voi vaikuttaa ruokahalun säätelyyn.

POMC on ravinnon nauttimista vähentävä, ja AgSP ravinnon nauttimista lisäävä proteiini (Frost et al., 2014). Neuronit, jossa AgSP ja POMC -proteiineja esiintyy, ovat merkittävässä osassa energiatasapainon säätelyssä (Claret et al., 2007). AMPK on entsyymi, joka aktivoi ATP:tä tuottavia katabolisia reaktioreittejä, ja vastaavasti sulkee ATP:tä kuluttavia reaktioita. AMPK:n on esitetty myös olevan mukana energiatasapainon säätelyssä (Claret et al., 2007; Huynh et al., 2016).

Asetaatti vähentää AMPK:n fosforylaatiota, mikä aiheuttaa kyseisen entsyymin inaktivoitumisen. Asetyyli-koentsyymikarboksylaasi (eng. acetyl coenzyme carboxylase; ACC) on AMPK:n säätelyn alaisena oleva entsyymi. AMPK:n inaktivoituminen kiihdyttää ACC -entsyymin toimintaa. ACC voi aktiivisena kasvattaa malonyyli-koentsyymi-nimisen molekyylin tuotantoa. Lisääntynyt malonyyli-koentsyymiin määrä stimuloi POMC:n ja estää AgSP:n ekspressiota, mikä voi vähentää nautittavaa ruokamäärää (Frost et al., 2014). Asetaatin on

toisaalta havaittu lisäävän insuliinin tuotantoa aktivoimalla parasympaattista hermostoa, mikä voi lisätä riskiä metabolisen syndrooman kehittymiseen (Perry et al., 2016).

4.1.2 Propionaatin ja muiden lyhytketjuisten rasvahappojen vaikutus veri-aivoesteeseen

Veri-aivoeste on fyysinen este verisuonien ja aivokudoksen välillä (Barret et al., 2016). Veri-aivoeste suojaa keskushermostoa hermosoluille haitallisilta, veren välityksellä kulkevilta yhdisteiltä (Banks et al., 2015). Asetaatin, propionaatin ja butyraatin on esitetty vaikuttavan veri-aivoesteen läpäisevyyttä sääteleviin proteiineihin klaudiini-5:een ja okludiiniin. Nämä proteiinit ovat osana tiukkoja liitoksia, joita tarvitaan veri-aivoesteen normaaliin toimintaan. Mikrobittomilla hiirillä veri-aivoesteen läpäisevyys suurenee, mikä johtuu klaudiini-5:n ja okludiinin määrän vähenemisestä (Braniste et al., 2014).

Mikrobittomien hiirten altistaminen asetaattia ja propionaattia pääosin tuottavalle *Bacteroides thetaiotaomicron* bakteerikannalle tai butyraattia tuottavalle *Clostridium tyrobutyrium* bakteerikannalle vähentää veri-aivoesteen läpäisevyyttä. Myös Klaudiini-5:n ja okludiinin tuotto lisääntyy mikrobittomien hiirten aivojen osissa, kun ne altistetaan normaaliflooraisten hiirten suolistobakteereille (Braniste et al., 2014).

Toisessa tutkimuksessa veri-aivoestettä mallintavien solujen altistamisen propionaatille ei huomattu vaikuttavan veri-aivoesteen tiukkojen liitosten proteiinien esiintyvyyteen. Propionaatin kuitenkin havaittiin suojaavan veri-aivoestettä lipopolysakkaridin (LPS) vaikutuksilta (Hoyles et al., 2018). LPS on yhdiste, jota esiintyy gram-negatiivisten bakteerien soluseinässä (Mathews et al., 2013). LPS:n tiedetään häiritsevän veri-aivoesteen toimintaa, mikä johtuu LPS:n aiheuttamasta tulehduksesta (Banks et al., 2015). Propionaatti vähentää immuunisysteemin signaaloinnissa toimivan CD14-proteiinin ilmentymistä veri-aivoestettä mallintavissa soluissa, mikä estää LPS:n indusoimaa tulehdusta ja veri-aivoesteen toiminnan häiriintymistä (Hoyles et al., 2018).

Propionaatti suojaa veri-aivoestettä oksidatiiviselta stressiltä nuclear factor-erythroid 2 p45 related factor 2 (NRF2) –nimisen transkriptiotekijän välityksellä (Hoyles et al., 2018). NRF2 säätelee soluja suojaavien geenien ilmentymistä. NRF2:n kohdegeenit koodaavat antioksidanttisia proteiineja, ksenobioottien eli luonnossa esiintymättömien yhdisteiden detoksifikaatioon osallistuvia entsyymejä, sekä vaurioituneita proteiineja tai soluelimiä korjaavia ja poistavia entsyymejä (Dinkova-Kostova et al., 2018). Propionaatti stimuloi NRF2:n kulkeutumista solulimasta tumaan. Propionaatin vaikutus veri-aivoestettä mallintavien

solujen antioksidanttiseen toimintaan näkyi solunsisäisten happiradikaalien vähentyneenä määränä (Hoyles et al., 2018).

NRF2:n toiminnalla voi olla suojaavia vaikutuksia neurodegeneratiivisissa sairauksissa (Dinkova-Kostova et al., 2018), kuten Parkinsonin taudissa (Williamson et al., 2012) ja Alzheimerin taudissa (Fragoulis et al., 2017). Häiriöt veri-aivoesteen toiminnassa voivat taas edesauttaa neurodegeneratiivisten sairauksien kehittymistä (Sweeney et al., 2018).

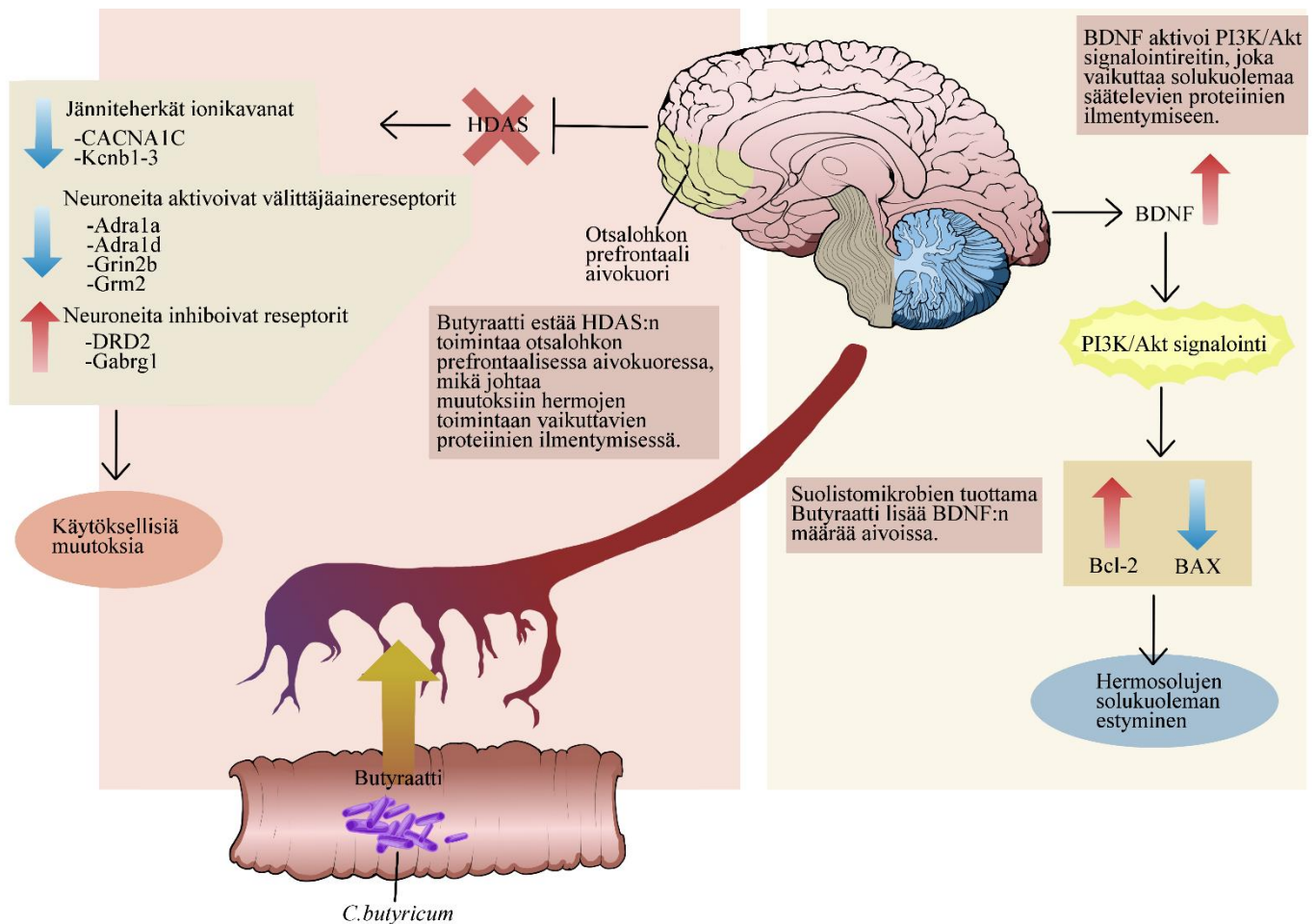
4.1.2. Butyraatti ja butyraattia tuottavien bakteerien vaikutus aivojen toimintaan

Butyraatin on esitetty olevan tärkeässä roolissa suoliston tasapainon ja terveyden ylläpidossa (Canani et al., 2011). Butyraatin, sen johdannaisten ja butyraattia tuottavien mikrobien osuus aivotoiminnan säätelyyn, käyttäytymiseen, veri-aivoesteen ja gliasolujen toimintaan on ollut tutkimusten kohteena. Butyraatin tai sen johdannaisten annostus on osassa näistä tutkimuksista ollut melko suuri (1200 mg/kg). Ei ole varmaa, voiko ravinnon tai suolistomikrobien toiminnan kautta saada vastaavaa annosta butyraattia (Stilling et al., 2016). Butyraatin hajotus on myös nopeaa. Aivoissa 80% butyraatista hajoaa aineenvaihdunnan vaikutuksesta viiden minuutin aikana (Kim et al., 2013). Butyraatti, butyraatin johdannaiset ja butyraattia tuottavien bakteerien on kuitenkin huomattu vaikuttavan geenien luentaan aivoissa (kuva 4.) (Kratsman et al., 2016; J. Liu et al., 2015).

Natriumbutyraatti vaikuttaa geenien ilmentymiseen otsalohkon prefrontaalisessa aivokuoressa autismikirjon tautimallina käytetyissä hiirissä. Altistaminen natriumbutyraatille vähentää jänniteherkkien ionikanavien (CACNA1C, Kcnb1, Kcnb2, Kcnb3) ja neuroneita aktivoivien välittäjäaineresptorigeenien (Adra1a, Adra1d, Grin2b, Grm2) ekspressiota. Vastaavasti neuronien toimintaa inhiboivien reseptorien (DRD2, Gabrg1) ekspressio kasvaa. Hiirten käyttäytymisessä havaittiin myös muutoksia. Kymmenen päivän natriumbutyraattikuuri (100mg/kg) lisäsi hiirten sosiaalista käyttäytymistä. Natriumbutyraatin vaikutuksen epäiltiin johtuvan sen vaikutuksesta histonideasetylaasien (eng. histone deacetylase;HDAS) toimintaan (Kratsman et al., 2016).

Butyraatti on ensimmäinen orgaaninen yhdiste, jonka on havaittu inhiboivan HDAS-proteiineja. HDAS:t ovat entsyymejä, jotka poistavat asetyyliiryhmiä peptidiketujen lysiinitähteistä. Histonien häntäosien asetylaation tiedetään aktivoivan geenien luenta, ja butyraatin on havaittu lisäävän histonien asetylaation määrää (Stilling et al., 2016).

C.butyricum -bakteerilla on neuroneita suojaavia vaikutuksia vaskulariista dementiaa mallintavissa hiirissä. *C.butyricum* -bakteeria pidetään probioottina ja sen on esitetty muovaavaan lyhytketjuisten rasvahappojen metaboliaa. Altistaminen *C.butyricum* -bakteerille



Kuva 4. Suolistoperäinen butyraatti vaikuttaa geenien ilmentymiseen aivoissa.

lisää butyraatin määrää hiirten ulosteessa ja aivoissa sekä monipuolistaa suoliston mikrobiomia. *C.butyricum* paransi vaskulaarista dementiaa mallintavien hiirten kognitiivisia kykyjä ja vähensi neuronien solukuolemaa eli apoptoosia. Tämän arveltiin johtuvan *C.butyricum* vaikutuksesta butyraatin määrään ja edelleen apoptoosia sääteleviin proteiineihin (Liu et al., 2015).

C.butyricum kasvattaa aivoperäisen neurotrofisen tekijän (eng. brain derived neurotrophic factor; BDNF) määrää vaskulaarisen dementian tautimallissa. BDNF kuuluu hermokasvutekijöihin. BDNF:n ominaisuuksiin kuuluvat mm. apoptoosin ja tulehduksen estäminen. BDNF voi aktivoida fosfoinositoli 3-kinaasi/proteiinikinaasi B (PI3K/Akt) signaalireittiä, joka säätelee neuronien kasvua, elossa pysymistä ja aineenvaihduntaa. PI3K/Akt

signaalireitin säätelyn alaisena ovat B-solu lymfooma 2 (eng. B-cell lymphoma 2; Bcl-2) ja Bcl-tekijä (eng. Bcl associated factor; BAX). Bcl-2 ja BAX ovat apoptoosin säätelyyn osallistuvia proteiineja. Bcl-2 on apoptoosia estävä. BAX on apoptoosia edistävä. Vaskulaarisen dementian tautimallissa altistaminen *C.butyricum* -bakteerille lisää Bcl-2:n ja vastaavasti estää BAX:n ekspressiota (Liu et al., 2015).

4.2. Enterokromaffiinisolut suolistomikrobien ja hermoston välissä

Enterokromaffiinisolut ovat yleisin solutyypin ruuansulatuskanavan enteroendokriinisistä soluista, vaikka niiden esiintyvyys on alle prosentin koko suoliston epiteelistä (Bellono et al., 2017). Enterokromaffiinisolujen on esitetty toimivan välittäjänä suolistomikrobien ja hermoston välisessä vuorovaikutuksessa, johon kuuluvat enterinen hermosto (Hyland and Cryan, 2016) sekä kiertäjähermo (Egerod et al., 2018).

Kiertäjähermo eli vagusherma on kymmenes aivohermo, jolla on laajin hermotettava alue elimistössä muihin aivohermoihin verrattuna (Gilroy et al., 2008). Kiertäjähermon tehtävänä on välittää tietoa sydäimestä, keuhkoista, haimasta, maksasta ja ruuansulatuskanavasta aivoihin (Forsythe and Kunze, 2013). Ruuansulatuskanavasta afferentit vegaaliset neuronit kuljettavat tietoa selkäytimen läpi solitaaritumakkeeseen (eng. nucleus of the solitary tract), joka sijaitsee aivorungon kaudaaliosalla eli hännänpuoleisella alueella ts. ydinjatkeessa. Aivorungosta polysynaptiset syötteet kytkeytyvät korkeisiin aivojen alueisiin, kuten hypotalamukseen ja isoaivojen limbiseen osaan (Foster et al., 2017).

Kiertäjähermon on esitetty olevan tärkein toimija suolistomikrobien ja aivojen kommunikaatiossa (Forsythe et al., 2012). Vegaalisia afferentteja neuroneja esiintyy ruuansulatuskanavan limakalvossa (Powley et al., 2011). Vegaaliset afferentit hermopäätteet jaetaan kolmeen alaluokkaan sijaintinsa perusteella. Yksi ryhmä sijaitsee suoliston villusten kärjissä aivan epiteelin alapuolella. Toinen ryhmä sijaitsee kryptien pohjalla ja kolmas ryhmä suoliston rauhasien ympärillä (Bonaz et al., 2018; Powley et al., 2011). Nämä neuronit voivat reagoida molekyyliin, jotka kulkeutuvat suolen epiteelin läpi tai erittyvät paikallisesti (Egerod et al., 2018).

Enterinen hermosto on ruuansulatuskanavan hermosto, joka signaloi keskushermoston kanssa esimerkiksi kiertäjähermon välityksellä (Lyte, 2013). Enterinen hermosto koostuu miljoonista suoliston limakalvolla sijaitsevista neuroneista (De La Fuente-Nunez et al., 2018). Näihin neuroneihin kuuluvat sensoriset ja motoriset hermot sekä interneuronit. Enterisen hermoston hermopäätteet sijaitsevat limakalvon epiteelisolujen läheisyydessä, mikä on ideaalinen

kohtauspaikka suolistobakteerien kanssa (Kunze et al., 2009). Enteerinen hermosto voi itsenäisesti säädellä ruuansulatuskanavan toimintoja, kuten liikkuvuutta, limaneritystä ja verenkiertoa. Autonomiansa takia enteristä hermostoa kutsutaan toisiksi aivoiksi (O'Mahony et al., 2015).

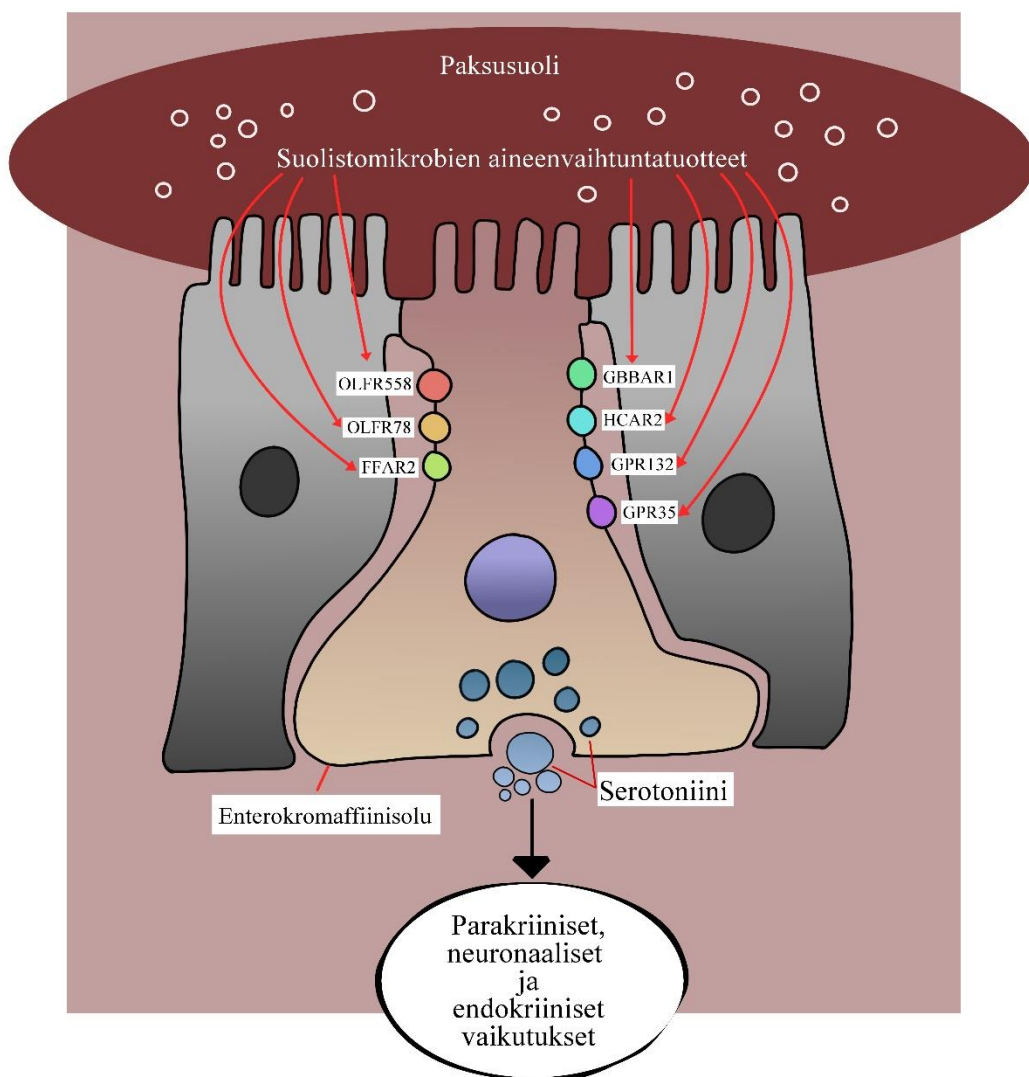
Enterokromaffiinisolujen pääomainen eritystuote on 5-hydroksitryptamiini (5-HT) eli serotoniini (Reigstad et al., 2015; Yano et al., 2015). Serotoniini toimii hermovälittäjäaineena aivoissa ja enterisessä hermostossa. Ruuansulatuskanavassa serotoniini vaikuttaa eritystoimintaan, liikkuvuuteen ja kivun havainnointiin (Foster et al., 2017). Keskushermostossa serotoniini vaikuttaa motoriseen kontrolliin, vuorokausirytmiiin, pikkuaivojen säätelyyn, ruumiinlämpöön ja verisuonten supistumiseen. Serotoniinin käyttäytymiseen liittyviin vaikutuksiin kuuluvat sisäelinkipu, emootio, stressivaste, ruokahalu, addiktio ja seksuaalisuus (O'Mahony et al., 2015).

Enterokromaffiinisolut tuottavat yli 90% elimistön kaikesta serotoniinista. Serotoniinin synteessissä merkittävimpänä entsyyminä toimi tryptofaanihydroksylaasi 1 (TPH1) (Reigstad et al., 2015; Yano et al., 2015). Muodostunut serotoniini varastoituu enterokromaffiinisolujen vesikkeleihin kompleksimuodossa happomaisten proteiinien, kuten kromograniniini A:n kanssa (Lund et al., 2018). Enterokromaffiinisolujen syntetisoima serotoniini erittyy lamina propriaan kautta ekstrasellulaariseen tilaan, jonka kautta serotoniini pääsee vaikuttamaan hermosyihin (Waclawiková and El Aidy, 2018). Verisuonistossa verihiutaleet ja albumiini toimivat serotoniinin kuljettajina (Bellono et al., 2017). Serotoniini ei kuitenkaan kykene kulkemaan veri-aivoesteen läpi aivoihin (Agus et al., 2018), mutta perifeerisen serotoniinin on havaittu vähentävän ruokahalua ja lisäävän kylläisyyden tunnetta (Voigt and Fink, 2015).

Mikrobittomilla hiirillä serotoniinin määrä paksusuolella (Yano et al., 2015), seerumissa (Sjögren et al., 2012) ja plasmassa (Wikoff et al., 2009) on huomattavasti pienempi verrattuna normaaliflooraisiin hiiriin. Mikrobien läsnäolo tai puuttuminen ei kuitenkaan vaikuta serotoniinia tuottavien enterokromaffiinisolujen määrään. Mikrobittomien hiirten serotoniinitaso normalisoituu paksusuolella ja seerumissa, mikäli ne altistetaan hiiristä peräisin oleville itiöitä muodostaville bakteereille. Näihin bakteereihin kuuluvat ensisijaisesti *Clostridium* -suvun jäsenet. Sama vaikutus saadaan myös ihmisen paksusuolesta peräisin olevilla mikrobeilla (Yano et al., 2015).

Suolistomikrobien läsnäolo lisää TPH1:n ekspressiota enterokromaffiinisoluissa (Yano et al., 2015). TPH1:n ekspression kasvu ja serotoniinin tuotannon lisääntymien ovat yhteydessä suolistobakteerien tuottamiin lyhytketjuihin rasvahappoihin (Reigstad et al., 2015).

Suurin osa suolistomikrobien aineenvaihduntatuotteiden havaitsemisesta tapahtuu enterokromaffiinisolujen basolateraalaisella puolella olevien reseptorien kautta. Paksusuolen enterokromaffiinisoluissa on useita potentiaalisia G-proteiinireseptoreita, jotka voivat toimia mikrobien aineenvaihduntatuotteiden havaitsemisessa (Taulukko I. ja kuva 5.). Näitä mikrobien aineenvaihdunnan tuotteita havaitsevia reseptoreita on huomattavasti vähemmän tai ei laisinkaan ohutsuolen enterokromaffiinisoluissa (Lund et al., 2018).



Kuva 5. Paksusuolen enterokromaffiinisoluissa on useita reseptoreita, jotka tunnistavat suolistomikrobien tuottamia aineenvaihduntatuotteita.

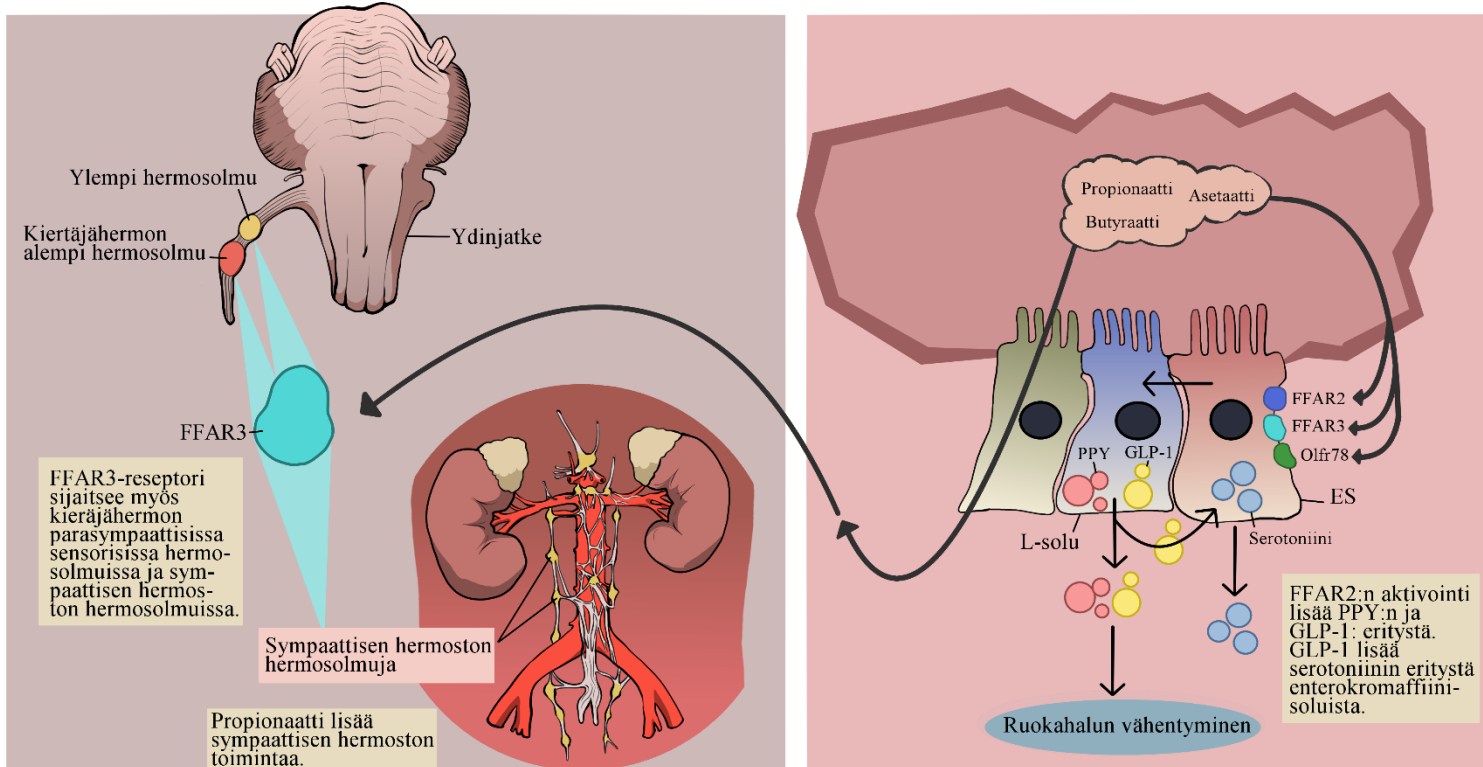
Taulukko I. Mikrobien aineenvaihduntatuotteita tunnistavat proteiinit enterokromaffiinisoluissa. (Lund et al., 2018) Olfr558 -proteiini esiintyy vain hiirissä. Ihmisillä vastaava proteiini on nimeltään OR51E1 (Stilling et al., 2016). LKRH: lyhytketjuiset rasvahapot.

Proteiini	molekyyli
Olf78	LKHR
FFAR2	LKHR
FFAR3	LKHR
Olf558 (hiiri)	Isovaleriaanahappo
GPR35	Aromaattisten happojen metaboliitit (kynureenihappo)
GPR132	Asyyliamidit ja laktaatti
GPBAR1	Sekundaariset sappihapot
HCAR2	ketonit ja niasiini

Lyhytketjuisia rasvahappoja tunnistavat vapaiden rasvahappojen reseptori 2 (eng. free fatty acid receptor 2; FFAR2) ja olfaktorinen reseptori 78 (eng. olfactory receptor 78; Olf78). Vapaiden rasvahappojen reseptori 3 (FFAR3) tunnistaa lyhytketjuisia rasvahappoja, mutta sen määrä enterokromaffiinisoluissa on pienempi verrattuna FFAR2 ja Olf78:aan (Lund et al., 2018). FFAR3 -proteiinia esiintyy myös sympaattisen hermoston (Kimura et al., 2011) ja kiertäjähermon parasympaattisissa sensorisissa hermosolmuissa (kuva 6.) (Nøhr et al., 2015). FFAR2 ja FFAR3 -proteiinit reagoivat propionaattiin, asetaattiin ja butyraattiin (Le Poul et al., 2003). Propionaatin on esimerkiksi havaittu vaikuttavan sympaattisen hermoston toimintaan. Propionaatti aktivoi FFAR3 -proteiinia, jonka vaikutuksesta aktiopotentialien määrä sympaattisissa neuroneissa kasvaa (Kimura et al., 2011).

FFAR2 -reseptoria esiintyy muissakin suoliston soluissa. Propionaatti voi aktivoida FFAR2 reseptorin ja stimuloida Peptidi YY:n (PYY) ja glukagonin kaltaisen peptidi-1:n (GLP-1) eritystä L-soluista (Chambers et al., 2015). PYY ja GLP-1 ovat kylläisyydestä signaloivia hormoneja, jotka vähentävät ruokahalua. (Holst, 2007; Holzer et al., 2012). GLP-1 voi lisätä serotoniinin eritystä enterokromaffiinisoluista (Lund et al., 2018). Olfaktorinen reseptori 558 (Olf558) tunnistaa mikrobien aineenvaihduntatuotteista isovaleriaanahapon. Olf558 reseptorin aktivoituminen stimuloi P/Q-tyypin jänniteherkkiä Ca^{2+} kanavia enterokromaffiinisoluissa. Nämä kanavat säätelevät serotoniinin vapautumista afferentteihin neuroneihin, jotka ovat synaptisen kaltaisessa yhteydessä enterokromaffiinisolujen kanssa. Serotoniinin vaikutukset voivat kuitenkin olla suhteellisen paikallisia (Bellono et al., 2017).

Isovaleriaanahappo on lyhytketjuinen rasvahappo, jota suolistomikrobit voivat tuottaa ravinnon sisältämästä proteiinista (Szczesniak et al., 2016). Isovaleriaanahapon on havaittu olevan yhteydessä ruuansulatuskanavan häiriöihin, kuten ärtyvän suolen oireryhmään, sisäelinkipuun (Bellono et al., 2017) ja masennukseen (Szczesniak et al., 2016).



Kuva 6. Lyhytketjuisia rasvahappoja tunnustava reseptori FFAR3 sijaitsee suoliston lisäksi hermostossa. FFAR2:n toiminta suolistossa voi vaikuttaa ruokahalun säätelyyn L-solujen toiminnan kautta. ES: enterokromaffiinisolu.

Lyhytketjuisena rasvahappona isovaleriaanahappo voi kulkeutua aivoihin (Frost et al., 2014; Szczesniak et al., 2016), jossa isovaleriaanahapon on havaittu estävän Na^+ , K^+ -ATPaasin toimintaa (Ribeiro et al., 2009). Na^+ , K^+ -ATPaasin toimintaa tarvitaan neuronien lepopotentiaalin ylläpitoon, mikä mahdollistaa neuroimpulssien normaalin toiminnan. Suolistomikrobien tuottama isovaleriaanahappo voi häiritä neuronien viestiliikennettä, ja olla näin yhteydessä masennukseen. Tutkimukseen osallistuneista kahdella kolmesta masennukseen sairastuneesta ihmisestä isovaleriaanahapon määrä ulosteessa oli merkittävästi suurempi verrattuna terveisiin yksilöihin (Szczesniak et al., 2016).

Suolistomikrobit kykenevät tuottamaan neuroaktiivisia aineita, kuten katekoliamiineja esim. dopamiinia ja noradrenaliinia sekä histamiinia (Taulukko II.). Nämä molekyylit voivat stimuloida neurofysiologisia toimintoja ruuansulatuskanavan reseptorien välityksellä tai kulkeutumalla suolen seinämän läpi porttiverenkiertoon (Lyte, 2013). Enterokromaffiinisolut ovat herkkiä adrenaliinille ja noradrenaliinille. Adrenaliini lisää serotoniinin vapautumista enterokromaffiinisoluista (Bellono et al., 2017).

Taulukko II. Hermovälittäjäaineiden vaikutus elimistössä (Barret et al., 2016) ja hermovälittäjäaineita tuottavat tuottavat mikrobit (Strandwitz, 2018).

Välittäjäaine	Vaikutus	Mikrobi
Dopamiini	Palkitsemisjärjestelmän säätely ja motorinen kontrolli.	<i>B. cereus</i> <i>B. mycoides</i> <i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>H. alvei</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>M. morganii</i> <i>P. vulgaris</i> <i>S. marcescens</i> <i>S. aureus</i>
Noradrenaliini	Aineenvaihdunnan kiihtyminen.	<i>B. mycoides</i> <i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>P. vulgaris</i> <i>S. marcescens</i>
Serotoniini	Ruunsulatuskanavan ja aivojen toiminnan säätely.	<i>E. coli</i> <i>H. alvei</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>L. plantarum</i> <i>M. morganii</i> <i>S. thermophilus</i>
GABA	Pre- ja postsynaptinen hermojen toiminnan estäminen.	<i>B. adolescentis</i> <i>B. angulatum</i> <i>B. dentium</i> <i>B. infantis</i> <i>L. brevis</i> <i>L. buchneri</i> <i>L. paracasei</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. reuteri</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> <i>M. purpureus</i> <i>S. salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>
Asetylikoliini	Lihasten ja autonomisen hermoston toiminta	<i>L. plantarum</i>
Histamiini	Immuunipuolustuksen, seksuaalikäyttäytymisen, verenpaineen, kipuaistimuksen, ja aivolisäkkeen hormonien erityksen säätely.	<i>C. freundii</i> <i>Enterobacter spp</i> <i>H. alvei</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. hilgardii</i> <i>L. mali</i> <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>M. morganii</i> <i>O. oeni</i> <i>P. parvulus</i> <i>S. thermophiles</i>

Suolistomikrobien on havaittu vaikuttavan vapaan dopamiinin ja noradrenaliinin määrään suoliston lumenissa. Mikrobittomilla hiirillä dopamiinin ja noradrenaliinin määrä suolistossa on huomattavasti pienempi kuin hiirillä, joita ei ole altistettu tietyille taudinaiheuttajille. Tällaisia hiiriä kutsutaan SPF (eng. specific pathogen free) -hiiriksi. Yli 90% dopamiinista ja noradrenaliinista on biologisesti aktiivisessa eli vapaassa muodossa SPF-hiirillä, kun taas mikrobittomilla hiirillä yli 90% dopamiinista ja 40-50% noradrenaliinista on biologisesti inaktiivisessa muodossa. *Clostridium*-bakteerien ja SPF-hiirien ulosteperäisten bakteereiden kolonisaatio mikrobittomiin hiiriin lisäävät vapaan dopamiinin ja noradrenaliinin määrää altistettujen hiirten suolistossa (Asano et al., 2012).

Enterokromaffiinisolujen vapauttaman serotoniinin on havaittu olevan proinflammatorinen, eli tulehdusta edistävä molekyyli (Bischoff et al., 2009; Gershon, 2013). Serotoniini aktivoi immuunipuolustuksen dendriittisoluja 5-HT₇-reseptorien välityksellä. Dendriittisolut ovat merkittäviä luontaisen immunitetin soluja, jotka aktivoivat adaptiivista immuunipuolustusta. Serotoniini stimuloi dendriittisoluja tuottamaan immuunipuolustuksen toimintaa ohjaavia sytokiineja (N. Li et al., 2011).

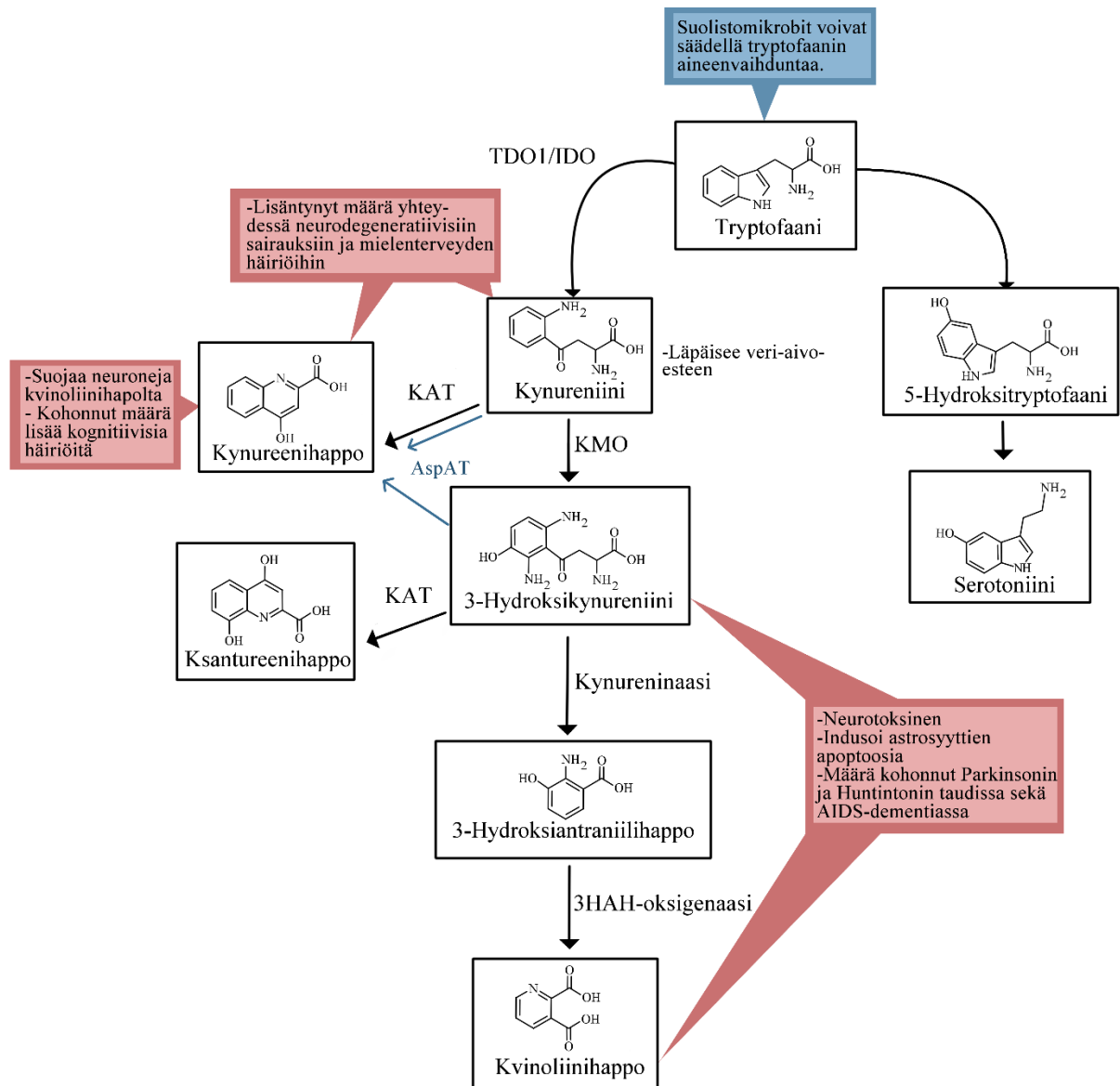
4.3. Suolistomikrobien vaikutus tryptofaanin aineenvaihduntaan

Tryptofaani on yksi ihmisille välttämättömistä aminohapoista, joita tulee saada ravinnon mukana (Roager and Licht, 2018). Noin 90 % elimistön tryptofaanista käsitellään kynureniinireitin (kuva 7.) kautta (Kennedy et al., 2017). Kynureniinireitti on immuunisysteemin kontrolloimaa (Schwarcz et al., 2012).

Kynureniinireitin toiminta on riippuvainen indoliamine-2,3-dioksigenaasin (IDO1) ja tryptofaani-2,3-dioksigenaasin (TDO) toiminnasta. IDO1 ja TDO suorittavat kynureniinireitin ensimmäisen vaiheen, jossa tryptofaani muuntuu kynureniiniksi. IDO1:tä esiintyy kaikissa kudoksissa ja TDO:ta vain maksassa. IDO1:n ekspressiota stimuloivat sytokiinit ja interferoni- γ . TDO:n ekspressioon vaikuttavat glukokortikoidit (Kennedy et al., 2017).

Kynureniini muuntuu joko kynureniiniaminotransferaasin (KAT) vaikutuksesta kynureniinihapoksi tai kynureniini-3-mono-oksigenaasin (KMO) vaikutuksesta 3-hydroksikynureniiniksi. KAT voi muuntaa 3-hydroksikynureniinin edelleen ksantureenihapoksi. 3-hydroksikynureniinin voi kynureninaasin vaikutuksesta muuttua 3-hydroksiantraniilihapoksi. 3-hydroksiantraniilihaposta (3HAH) voidaan lopuksi saada ATP:tä tai 3HAH-oksigenaasin tuottamaa kvinoliinihappoa, joka lopulta hajoaa NAD:ksi (Kennedy et al., 2017; Myint and Kim, 2014).

Stressissä ja tulehdustilassa vapautuvat sytokiinit ja kortisoli aktivoivat IDO ja TDO - proteiineja, jolloin kynureniinin taso nousee (Jeon and Kim, 2017). Prebiootteina toimivien galakto-oligosakkaridien käytön on havaittu laskevan syljessä mitatun kortisolin määrää ihmisillä. Prebiootilla tarkoitetaan sulamatonta kuitua, joka edistää suolistomikrobien kasvua (Schmidt et al., 2015).



Kuva 7. Kynureniinireitti. Tryptofaania voidaan muuntaa mm. kynureniinireitin aineenvaihduntatuotteiksi sekä serotoniiniksi (Kennedy et al., 2017). TDO: tryptofaani-2,3-dioksigenaasi, IDO1: indoliamiini-2,3-dioksigenaasi, KAT: kynureniiniaminotransferaasi, KMO: kynureniini-3-mono-oksigenaasi, 3HAH: 3-hydroksiantraniilihappo, AspAT: aspartaattiaminotransferaasi. AspAT-entsyymiä esiintyy mm. kolibakteereissa.

Kynureniinia tuotetaan paikallisesti aivoissa tryptofaanista. Kynureniini voi kuitenkin myös läpäistä veri-aivoesteen. On arvioitu, että noin 60% aivojen kynureniinista on peräisin verenkierrosta. Aivoissa astrosyytit ja mikroglia hoitavat suurimman osan tryptofaania ja kynureniinin kataboliasta (Jeon and Kim, 2017). Astrosyytit ovat yleisin soluryhmä keskushermostossa. Näiden solujen tehtäviin kuuluvat veri-aivoesteen ja aineenvaihdunnan

säätely, neuroviestintään vaikuttaminen sekä keskushermoston kehittymiseen ja korjaamiseen osallistuminen (Rothhammer et al., 2016). Mikroglia ovat keskushermostossa toimivia makrofageja, jotka muodostavat suurimman ryhmän keskushermoston mononukleaarista fagosyyteistä. Mikroglia osallistuvat keskushermoston immuunipuolustukseen ja ylläpitävät keskushermoston normaalia toimintaa (Voet et al., 2019).

Kynureniinireitin aineenvaihduntatuotteet, kuten kynureenihappo, 3-hydroksikynureniini ja kvinoliinihappo ovat neuroaktiivisia molekyylejä. Kynureniinit voivat vaikuttaa aivojen toimintaan ja olla mahdollisina taustatekijänä neurologisissa, neurodegeneratiivisissa ja psykiatrisissa sairauksissa (Schwarcz et al., 2012). Tryptofaanin lisääntynyt hajoaminen kynureniinireitin kautta on aikaisemmin yhdistetty tulehdustilaan ja masennukseen (Myint and Kim, 2014).

Kynureenihapon määrän lisääntyminen aivoissa aiheuttaa kognitiivisia häiriötä niin eläimissä kuin ihmisissäkin. Yhteyksiä on löytynyt myös Alzheimerin tautiin, Parkinsonin tautiin, kaksisuuntaiseen mielialahäiriöön ja skitsofreniaan, joilla yhteistä on ollut kynureniinin ja kynureenihapon lisääntynyt määrä aivoissa. Kynureniinihappo inhiboi glutaminergistä ja asetyylikoliinergistä neuroviestintää, minkä arvellaan olevan vaikuttava tekijä kynureniinihapon aiheuttamien kognitiivisten häiriöiden takana (Rudzki et al., 2019).

Kvinoliinihappo ja 3-hydroksikynureniini ovat myrkyllistä neuroneille ja astrosyyttien apoptoosia indusoivaa. Astrosyyttien apoptoosi voi häiritä glutaminergistä neuroviestintää, mikä voi johtaa krooniseen masennukseen (Myint and Kim, 2014).

Kvinoliinihapon myrkyllisyys johtuu sen aiheuttamasta ylistimulaatiosta hippokampuksen N-metyyli-D-aspartaatti (NMDA)-reseptoreihin (Myint and Kim, 2014; Wichers and Maes, 2004). NMDA on glutamaattireseptoreihin kuuluva proteiini, joka on tärkeä muistin toiminnalle (Agus et al., 2018). Kvinoliinihappo lisää kalsiumin virtausta neuroneihin, mikä voi johtaa hippokampuksen vaurioitumiseen ja oksidatiiviseen stressiin. Kvinoliinihappo myös indusoi lipidien peroksidisaatiota, joka voi johtaa muutoksiin membraanien ominaisuuksissa ja proteiinien toiminnassa. Kynureenihappo suojaa soluja kvinoleenihapon myrkyllisiltä ominaisuuksilta inhiboimalla NMDA:n toimintaa (Myint and Kim, 2014; Wichers and Maes, 2004).

3-hydroksikynureniinin vuorovaikutus ksantiinioksidaasi-nimisen entsyymin kanssa mahdollistaa happiradikaalien, kuten superoksidin, vetyperoksidin ja hydroksiradikaalien

muodostumisen. Kvinoliinihapon ja 3-hydroksikynureniinin tuotanto on kohonnut mm. Parkinsonin taudissa, Huntingtonin taudissa ja AIDS-dementiassa (Wichers and Maes, 2004).

Suolistomikrobit voivat mahdollisesti säädellä tryptofaanin metaboliaa, ja vaikuttaa serotoniinin sekä kynureniinin tuotantoon (Holzer and Farzi, 2014). Elimistössä kiertävän tryptofaanin määrä on kohonnut mikrobittomilla hiirillä ja kynureniinin ja tryptofaanin välinen suhde on pienempi verrattuna tavallisiin hiiriin. Mikrobittomien hiirten altistaminen tavallisten hiirten bakteereille laskee kiertävän tryptofaanin määrää ja nostaa kynureniinin sekä tryptofaanin välistä suhdetta (Clarke et al., 2013).

Rottien altistaminen probioottina käytetylle *B.infantis*-bakteerille lisää tryptofaanin sekä kynureeniinihapon määrää plasmassa (Desbonnet et al., 2008). *L.johnsonii* -bakteeri inhiboi IDO1:n toimintaa suoliston epiteelisoluisissa, ja rottien altistaminen tälle bakteerille laskee kynureniinin määrää rottien seerumissa 17% (Valladares et al., 2013). Kynureniinin määrä masennukseen sairastuneiden ihmisten seerumissa myös laskee *L.plantarum* 299v -bakteeria sisältävän probiootin käytön jälkeen. *L.plantarum* 299v -bakteeria saaneiden ihmisten kognitiivisessa toimintakyvyssä, kuten keskittymis- ja havainnointikyvyssä ilmeni myös parannuksia verrattuna plaseboryhmään (Rudzki et al., 2019).

On mahdollista, että tulehdusperäisesti muuntunut kynureniinin määrä suolistossa voi siirtyä verenkierron välityksellä aivoihin ja muuttaa kynureniinin ja sen aineenvaihduntatuotteiden määrää aivoissa (Waclawiková and El Aidy, 2018). Bakteerit voivat myös tuottaa kynureeniinihappoa aspartaatti aminotransferaasin (AspAT) välityksellä. AspAT kykenee muuntamaan kynureniinin ja 3-hydroksikynureniinin kynureeniinihapoksi. AspAT -entsyymiä esiintyy esimerkiksi kolibakteerissa (Han et al., 2001; Kennedy et al., 2017).

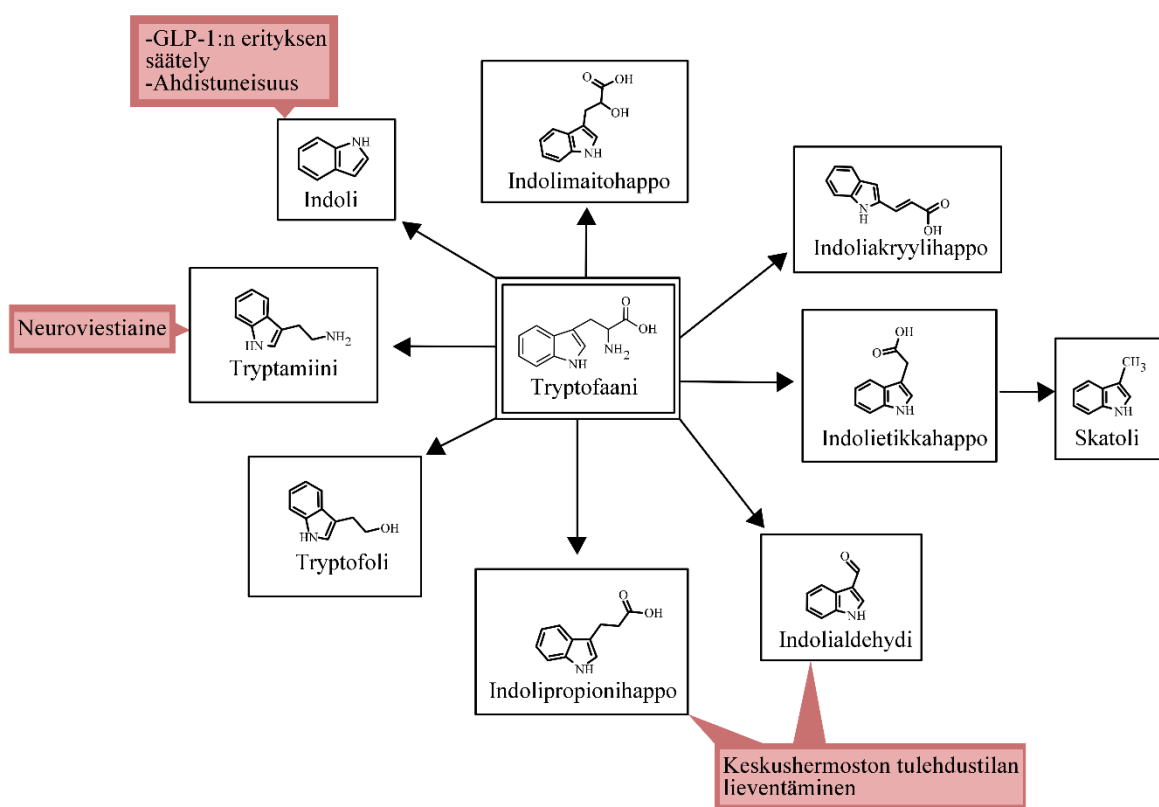
Suolistomikrobit voivat hyödyntää tryptofaania omassa aineenvaihdunnassaan. Suurin osa bakteerien käyttöön tulevasta tryptofaanista on peräisin sulamattomasta proteiinista, joka pääsee kulkeutumaan paksusuoleen. On arvioitu, että sulamatonta proteiinia ja aminohappoja kulkeutuu paksusuoleen noin 6-18 g päivässä riippuen syödyn proteiinin määrästä. Suolistomikrobit kykenevät tuottamaan tryptofaanista eri yhdisteitä (kuva 8.) (Roager and Licht, 2018). Tryptofaanin β -hiileen sitoutunut indoliryhmä on runsaan elektronimääränsä takia alttiina elektrofiilisille substituutioille, kuten alkylaatiolle, nitraatiolle ja halogenaatiolle, mikä mahdollistaa tryptofaanin muuntumisen useaksi eri yhdisteeksi (Alkhalaf and Ryan, 2015).

Yleisin tryptofaanin aineenvaihduntatuote bakteereissa on indoli, jonka tuottoa katalysoi tryptofanaasi (Kennedy et al., 2017). Indolia tuottavat mm. *Escherichia*, *Bacteroides* ja

Clostridium -sukujen bakteerit (Chimerel et al., 2014). Indolin jälkeen yleisimpiä tryptofaanin aineenvaihduntatuotteita ovat tryptamiini, indolietikkahappo, indolipropionihappo ja indolialdehydi (Roager and Licht, 2018).

Indoli lisää väliaikaisesti GLP-1:n eritystä hiiren paksusuolen L-soluissa, mutta pitkällä aikavälillä inhiboi sitä. Indoli inhiboi jänniteherkkien K^+ -ionikanavien toimintaa ja kasvattaa L-solujen aktiopotentiaalien väliä. Tämä lisää Ca^{2+} ionien sisään virtausta ja stimuloi GLP-1:n eritystä. Toisaalta indoli estää NADH dehydrogenaasin toimintaa. Seurauksena on ATP:n tuotannon hidastuminen, mikä pitkällä aikavälillä vähentää GLP-1:n eritystä (Chimerel et al., 2014).

Indoli voi metabolisoitua oksindoli ja isatiini-nimisiksi molekyyleiksi, joilla on neurodepressiivisiä ja liikkuvuuteen vaikuttavia ominaisuuksia. Indolin injektioiminen rottien umpisuoleen vähensi rottien motorista aktiivisuutta. Rottien silmien räpyttely lisääntyi, minkä arveltiin johtuvan kiertäjähermon aktivoitumisesta. Oksindolia ja isatiinia myös esiintyi näiden rottien aivoissa (Jaglin et al., 2018).



Kuva 8. Suolistomikrobien tryptofaanista tuottamia aineenvaihduntatuotteita (Henrik M Roager and Tine R Licht, 2018). Suolistomikrobit kykenevät tuottamaan tryptofaanista useita bioaktiivisia yhdisteitä (Alkhalaf and Ryan, 2015).

Indolia tuottavien kolibakteerien siirros mikrobittomiin rottiin vaikutti näiden emotionaaliseen käyttäytymiseen. Indolin runsas tuotanto oli yhteydessä rottien lisääntyneeseen avuttomuuteen,

ahdistuneen kaltaiseen käyttäytymiseen ja kiertäjähermon aktivaatioon. Oksindolia tai isatiinia ei kuitenkaan löytynyt näiden rottien aivoista (Jaglin et al., 2018).

Suolistomikrobien tuottamat aineenvaihduntatuotteet voivat vaikuttaa astrosyyttien toimintaan. Indolin maksassa muodostuva metaboliitti indoksyyli-3-sulfaatti, suolistomikrobien tuottamat indolipropionihappo ja indolialdehydi toimivat astrosyyteissä sijaitsevaan aryylihiilivetyreseptorin (AHR) agonisteina (Rothhammer et al., 2016). AHR on transkriptiotekijä, joka vaikuttaa mm. keskushermoston tulehdustiloihin liittyviin sekä neoplastisiin sairauksiin (Rothhammer and Quintana, 2019). Suolistomikrobien tuottamat molekyylit lieventävät keskushermoston tulehdustilaa astrosyyttien AHR-proteiinin välityksellä MS-tautia mallintavissa hiirissä. Tryptofaanin puuttuminen ravinnosta pahensi hiirien tautitilaa. Indoksyyli-3-sulfaatin määrää virtsassa väheni, kun hiirille annettiin antibiootteja, mikä kertoi suolistomikrobien vaikutuksesta indoksyyli-3-sulfaatin tuotantoon (Rothhammer et al., 2016).

5. Suolistomikrobit ovat osallisena useissa keskushermoston sairauksissa

Muutoksia suolistomikrobien koostumuksessa on havaittu useassa sairaudessa, kuten skitsofreniassa (Kelly et al., 2017), Parkinsonin taudissa (Petrov et al., 2017; Scheperjans et al., 2015), Alzheimerin taudissa (Cattaneo et al., 2017), autismikirjossa (de Theije et al., 2014) ja MS-taudissa (Tremlett et al., 2016).

Suolistoa on ehdotettu Parkinsonin taudin alkulähteeksi. 30% Parkinsonin tautia sairastavilla on ruuansulatuskanavan ongelmia, kuten pahoinvointia, oksentelua ja ummetusta. Alfasynukleiini -nimisen proteiinin kertymisen neuroneihin epäillään aiheuttavan Parkinsonin taudin oireet. Alfasynukleiinin epäillään pystyvän kulkeutumaan kiertäjähermon kautta aivoihin. Alfasynukleiniinikertymien on havaittu syntyvän enteriseen hermostoon ennen aivoja (Liddle, 2018). Suolistomikrobien koostumuksen on havaittu olevan yhteydessä siihen, esiintyykö Parkinsonin tautia sairastavalla vapinaa. Enterobakteerien määrä oli runsaampi potilailla, joilla vapinaa ei ollut verrattuna potilaisiin, joiden oireisiin vapina kuului. (Klingelhoefer and Reichmann, 2015).

Parkinsonin taudin tautimallina käytetyissä hiirissä suolistomikrobit vaikuttivat oireiden vakavuuteen. Parkinsonin tautia sairastavilta ihmisiltä peräisin olevat suolistomikrobit pahensivat hiirten motorisia ongelmia verrattuna niihin hiiriin, jotka saivat suolistomikrobisiirroksen terveiltä ihmisiltä. Suolistomikrobit myös lisäsivät alfasynukleiinin esiintyvyyttä hiirien aivoissa. Alfasynukleiinin esiintyvyyttä nostivat pelkästään

mikrobittomien hiirten altistaminen lyhytketjuisille rasvahapoille, jotka myös lisäsivät hiirten motorisia ongelmia (Sampson et al., 2016).

Alzheimerin tautia sairastavilla tulehdusta aiheuttavien suolistobakteerien, kuten *Escherichia* ja *Shigella* -sukuihin kuuluvien bakteerien määrä on kohonnut ja vastaavasti tulehdusta estävien bakteerien, kuten *E.rectalen* määrä on vähentynyt. Tulehdusta edistävien ja estävien sytokiinien määrä korreloi suolistobakteerien kanssa. Tulehdusta aiheuttavien suolistobakteerien läsnäolo lisäsi tulehdusta edistävien sytokiinien määrää. Tulehdusta estävien sytokiinien määrä oli myös pienentynyt suhteessa tulehdusta estävien suolistobakteerien määrään (Cattaneo et al., 2017). Suolistomikrobit, suolistomikrobien tuottamat yhdisteet ja tulehdusta säätelevät tekijät voivat vaikuttaa neuronien tulehdukseen ja lisätä Alzheimerin tautiin liittyvän amyloidin kertymistä aivoihin (Sarkar and Banerjee, 2019).

Autismikirjoon on yhdistetty ruuansulatuskanavan oireilu, kuten vatsakipu, ripuli ja ummetus (Adams et al., 2011). *Clostridium* -suvun bakteerien on esitetty olevan mahdollinen syy taantumisvaiheen sisältävään autismiin. Antibiooteilla on saatu väliaikaisia parannuksia neurobehavioraalsiin oireisiin taantumavaiheen läpikäyneillä autistisilla lapsilla. *Clostridium* -suvun bakteereja on löytynyt enemmän niillä autismikirjoon kuuluvilla lapsilla, joilla on myös ruuansulatuskanavan ongelmia verrattuna terveisiin henkilöihin (Ding et al., 2017). Lyhytketjuista rasvahappojen ja ammoniakkin määrä ulosteessa on myös kasvanut autismikirjoon kuuluvilla lapsilla (L. Wang et al., 2012).

MS-tautia sairastavilla lapsilla suolistomikrobien on havaittu vaikuttavan siihen, miten nopeasti MS-taudin pahenemisvaihe saapuu. Pahenemisvaihe saapui nopeammin niillä potilailla, joiden suolistossa oli pienentynyt määrä fusobakteereja ja lisääntynyt määrä firmikuutteja sekä arkeoineihin kuuluvan Euryarchaeota -pääjakson jäseniä (Tremlett et al., 2016). Epsilon-toksiinia erittävää B-tyypin *Clostridium perfringens* -bakteeria on löytynyt MS-tautia sairastavalta henkilöltä. Epsilon-toksiini voi kulkeutua suolistosta verenkierron välityksellä aivoihin ja aiheuttaa MS-taudille tyypillisiä oireita. (Rumah et al., 2013). Epsilon-toksiini häiritsee veri-aivoesteen toimintaa, mikä johtaa neuronien ja myeliiniä tuottavien oligodendrosyyttien vaurioitumiseen sekä autoimmunireaktioon (Sarkar and Banerjee, 2019).

6. Probiooteista apua moniin sairauksiin?

Probioottien tutkiminen on ollut vilkasta 2000-luvun jälkeen. Tutkimuskohteina ovat olleet probioottien vaikutukset mm. autoimmunisairauksiin (Liu et al., 2018), Alzheimerin tautiin

(Akbari et al., 2016), autismikirjoon (Santocchi et al., 2016) ja skitsofreniaan (Okubo et al., 2019)

Probiooteista on havaittu olevan jonkin verran hyötyä. MS-potilaiden invaliditeetin tasossa ja mielenterveydessä havaittiin parannuksia 12 viikon probioottikuurin jälkeen verrattuna plaseboryhmään. Käytetty probiootti sisälsi *L.acidophilus*, *L.casei*, *B.bifidum* ja *L.fermentum* -bakteereja (Kouchaki et al., 2017). Edellä mainittuja bakteereja sisältävä 12 viikon probioottikuuri paransi myös Alzheimerin tautia sairastavien ihmisten kognitiivisia kykyjä (Akbari et al., 2016).

Ulosteperäisistä bakteereista on havaittu olevan apua autismikirjoon liittyvien ruuansulatuskanavan ongelmien lievittämiseen sekä käytöksellisiin oireisiin. Suolistongelmissa havaittiin 80% lasku noin kahdeksan viikon kuurin jälkeen. Suolistomikrobisiirroksen vaikutukset pysyivät kuurin jälkeisen kahdeksan viikon seurannan aikana samana. Tutkittavien henkilöiden suolistomikrobikoostumus monipuolistui, mikä näkyi mm. *Bifidobacterium*, *Prevotella*, *Desulfibrio* -sukuisten bakteerien lisääntyneenä määränä (Kang et al., 2017).

On saatu alustavia tuloksia, että *B. breve* A-4 probiootilla on ahdistus- ja masennusoireita vähentäviä ominaisuuksia skitsofreniaan sairastuneilla (Okubo et al., 2019). Hiirikokeissa probioottien on aikaisemmin havaittu liittyvän vähentyneeseen ahdistuneeseen ja masentuneeseen kaltaiseen käytökseen (Bercik et al., 2011; Bravo et al., 2011; W. Li et al., 2009).

Probioottien käyttö lääkinnällisesti on rajoittunutta, koska tieto vaikutusmekanismeista on vähäistä (Liu et al., 2015). Harvinaisissa tapauksissa probiootteja saattaa päästä vereen, mikä voi johtaa sydämen sisäkalvon tulehdukseen ja jopa kuolemaan. Probioottien sijaan voisi olla mahdollista käyttää mikrobien tuottamia metaboliitteja, kuten lyhytketjuisia rasvahappoja tai tryptofaanin aineenvaihduntatuotteita. Tällä voitaisiin saavuttaa probioottien teho ilman eläviä mikrobeja (Liu et al., 2018).

7. Lopuksi

Lisätutkimusta tarvitaan mikrobien ja elimistön vuorovaikutuksesta. Suolistomikrobien ja elimistön välistä kommunikaatiota on haastavaa tutkia ihmisillä. Erilaiset muuttujat, kuten ruokavalio, ympäristö, sukupuoli ja geneettiset tekijät vaikeuttavat tutkimusta (Mayer et al., 2015). Suolistomikrobisto on laaja ja monimutkainen yhteisö. Yhden mikrobin vaikutusta kokonaisuuteen on tällöin vaikea selvittää (Cani, 2018). Edellä mainittujen tutkimustulosten

perusteella voi kuitenkin sanoa, että suolistomikrobien vaikutus elimistön toimintaan on laaja, eikä suolistomikrobien vaikutusmekanismeja tunneta tarkasti. Jatkotutkimukset mikrobiomi-maha-aivo-akselista ja sen vaikutuksista ihmiskehon toimintaan ja terveyteen ovat tervetulleita.

8. Lähteet

Adams JB, Johansen LJ, Powell LD, Quig D and Rubin RA (2011) Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism - comparisons to typical children and correlation with autism severity. *BMC Gastroenterology* 11:22

Agus A, Planchais J and Sokol H (2018) Gut Microbiota Regulation of Tryptophan Metabolism in Health and Disease. *Cell Host and Microbe* 23(6): 716-724.

Akbari E, Asemi Z, Kakhaki RD, Bahmani F, Kouchaki E, Tamtaji OR, et al. (2016) Effect of probiotic supplementation on cognitive function and metabolic status in Alzheimer's disease: A randomized, double-blind and controlled trial. *Frontiers in Aging Neuroscience* 8:256

Alkhalaf LM and Ryan KS (2015) Biosynthetic manipulation of tryptophan in bacteria: Pathways and mechanisms. *Chemistry and Biology* 22(3): 317-328.

Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. (2011) Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 473(7346): 174-180.

Asano Y, Hiramoto T, Nishino R, Aiba Y, Kimura T, Yoshihara K, et al. (2012) Critical role of gut microbiota in the production of biologically active, free catecholamines in the gut lumen of mice. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 303(11): G1288-95.

Banks WA, Gray AM, Erickson MA, Salameh TS, Damodarasamy M, Sheibani N, et al. (2015) Lipopolysaccharide-induced blood-brain barrier disruption: roles of cyclooxygenase, oxidative stress, neuroinflammation, and elements of the neurovascular unit. *Journal of Neuroinflammation* 12:223

Barret KE, Barman Sm, Boitano S and Brooks HL (2016) *Ganong's Review of Medical Physiology*. McGraw-Hill Education.

Bellono NW, Bayrer JR, Leitch DB, Castro J, Zhang C, O'Donnell TA, et al. (2017) Enterochromaffin Cells Are Gut Chemosensors that Couple to Sensory Neural Pathways. *Cell* 170(1):185-198.e16.

Bercik P, Park AJ, Sinclair D, Khoshdel A, Lu J, Huang X, et al. (2011) The anxiolytic effect of *Bifidobacterium longum* NCC3001 involves vagal pathways for gut-brain communication. *Neurogastroenterology & Motility* 23(12): 1132-1139.

Bischoff SC, Mailer R, Pabst O, Weier G, Sedlik W, Li Z, et al. (2009) Role of serotonin in intestinal inflammation: knockout of serotonin reuptake transporter exacerbates 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid colitis in mice. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 296(3): G685-95.

Bonaz B, Bazin T and Pellissier S (2018) The vagus nerve at the interface of the microbiota-gut-brain axis. *Frontiers in Neuroscience* 12:49.

Braniste V, Al-Asmakh M, Kowal C, Anuar F, Abbaspour A, Tth M, et al. (2014) The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. *Science Translational Medicine* 6(263):263ra158.

Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, Escaravage E, Savignac HM, Dinan TG, et al. (2011) Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108(38): 16050-16055.

Canani RB, Costanzo MD, Leone L, Pedata M, Meli R and Calignano A (2011) Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. *World Journal of Gastroenterology : WJG* 17(12): 1519-1528.

Cani PD (2018) Human gut microbiome: Hopes, threats and promises. *Gut* 67(9): 1716-1725.

Cattaneo A, Cattane N, Galluzzi S, Provasi S, Lopizzo N, Festari C, et al. (2017) Association of brain amyloidosis with pro-inflammatory gut bacterial taxa and peripheral inflammation markers in cognitively impaired elderly. *Neurobiology of Aging* 49: 60-68.

Chambers ES, Viardot A, Psichas A, Morrison DJ, Murphy KG, Zac-Varghese SEK, et al. (2015) Effects of targeted delivery of propionate to the human colon on appetite regulation, body weight maintenance and adiposity in overweight adults. *Gut* 64(11): 1744-1754.

Chimerel C, Emery E, Summers DK, Keyser U, Gribble FM and Reimann F (2014) Bacterial Metabolite Indole Modulates Incretin Secretion from Intestinal Enteroendocrine L Cells. *Cell Reports* 9(4): 1202-1208.

Claret M, Smith MA, Batterham RL, Selman C, Choudhury AI, Fryer LGD, et al. (2007) AMPK is essential for energy homeostasis regulation and glucose sensing by POMC and AgRP neurons. *Journal of Clinical Investigation* 117(8): 2325-2336.

Clarke G, Grenham S, Scully P, Fitzgerald P, Moloney RD, Shanahan F, et al. (2013) The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Molecular Psychiatry* 18(6): 666-673.

Cryan JF and Dinan TG (2012) Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nature Reviews. Neuroscience* 13(10): 701-712.

De La Fuente-Nunez C, Meneguetti BT, Franco OL and Lu TK (2018) Neuromicrobiology: How Microbes Influence the Brain. *ACS Chemical Neuroscience* 9(2): 141-150.

de Theije, C G M, Wopereis H, Ramadan M, van Eijndthoven T, Lambert J, Knol J, et al. (2014) Altered gut microbiota and activity in a murine model of autism spectrum disorders. *Brain, Behavior, and Immunity* 37: 197-206.

Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, Bienenstock J and Dinan TG (2008) The probiotic *Bifidobacteria infantis*: An assessment of potential antidepressant properties in the rat. *Journal of Psychiatric Research* 43(2): 164-174.

Ding HT, Taur Y and Walkup JT (2017) Gut Microbiota and Autism: Key Concepts and Findings. *Journal of Autism and Developmental Disorders* 47(2): 480-489.

Dinkova-Kostova AT, Kostov RV and Kazantsev AG (2018) The role of Nrf2 signaling in counteracting neurodegenerative diseases. *FEBS Journal* 285(19): 3576-3590.

Egerod KL, Petersen N, Timshel PN, Reikling JC, Wang Y, Liu Q, et al. (2018) Profiling of G protein-coupled receptors in vagal afferents reveals novel gut-to-brain sensing mechanisms. *Molecular Metabolism* 12: 62-75.

Forsythe P, Kunze WA and Bienenstock J (2012) On communication between gut microbes and the brain. *Current Opinion in Gastroenterology* 28(6): 557-562.

Forsythe P and Kunze W (2013) Voices from within: gut microbes and the CNS. *Cellular and Molecular Life Sciences* 70(1): 55-69.

Foster JA, Rinaman L and Cryan JF (2017) Stress & the gut-brain axis: Regulation by the microbiome. *Neurobiology of Stress* 7: 124-136.

Fragoulis A, Siegl S, Fendt M, Jansen S, Soppa U, Brandenburg L-, et al. (2017) Oral administration of methysticin improves cognitive deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Redox Biology* 12: 843-853.

Frost G, Sleeth ML, Sahuri-Arisoylu M, Lizarbe B, Cerdan S, Brody L, et al. (2014) The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nature Communications* 5: 3611.

Gershon MD (2013) 5-Hydroxytryptamine (serotonin) in the gastrointestinal tract. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity* 20(1): 14-21.

Gilroy, Anne MacPherson, Brian Ross, Lawrence Schuenke, Michael Schulte, Erik Schumacher, Udo (2008) *Atlas of Anatomy*. New York: Thieme.

Han Q, Fang J and Li J (2001) Kynurenine aminotransferase and glutamine transaminase K of *Escherichia coli*: Identity with aspartate aminotransferase. *Biochemical Journal* 360(3): 617-623.

Henrik M Roager and Tine R Licht (2018) Microbial Tryptophan Catabolites in Health and Disease. *Nature communications* 9(1),3294

Hoban AE, Moloney RD, Golubeva AV, McVey Neufeld KA, O'Sullivan O, Patterson E, et al. (2016) Behavioural and neurochemical consequences of chronic gut microbiota depletion during adulthood in the rat. *Neuroscience* 339: 463-477.

Holst JJ (2007) The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiological Reviews* 87(4): 1409-1439.

Holzer P and Farzi A (2014) Neuropeptides and the microbiota-gut-brain axis. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 817: 195.

Holzer , Reichmann F and Farzi A (2012) Neuropeptide Y, peptide YY and pancreatic polypeptide in the gut–brain axis. *Neuropeptides* 46(6): 261-274.

Hoyles L, Snelling T, Umlai U, Nicholson JK, Carding SR, Glen RC, et al. (2018) Microbiome–host systems interactions: protective effects of propionate upon the blood–brain barrier. *Microbiome* 6(1): 55.

Huynh MKQ, Kinyua AW, Yang DJ and Kim KW (2016) Hypothalamic AMPK as a Regulator of Energy Homeostasis. *Neural Plasticity* 2016.

Hyland NP and Cryan JF (2016) Microbe-host interactions: Influence of the gut microbiota on the enteric nervous system. *Developmental Biology* 417(2): 182-187.

Jaglin M, Rhimi M, Philippe C, Pons N, Bruneau A, Goustard B, et al. (2018) Indole, a signaling molecule produced by the gut microbiota, negatively impacts emotional behaviors in rats. *Frontiers in Neuroscience* 12:216.

Jeon SW and Kim Y- (2017) Inflammation-induced depression: Its pathophysiology and therapeutic implications. *Journal of Neuroimmunology* 313: 92-98.

Kang D-, Adams JB, Gregory AC, Borody T, Chittick L, Fasano A, et al. (2017) Microbiota Transfer Therapy alters gut ecosystem and improves gastrointestinal and autism symptoms: An open-label study. *Microbiome* 5(1):10.

Kelly JR, Minuto C, Cryan JF, Clarke G and Dinan TG (2017) Cross talk: The microbiota and neurodevelopmental disorders. *Frontiers in Neuroscience* 11:490.

Kennedy PJ, Cryan JF, Dinan TG and Clarke G (2017) Kynurenine pathway metabolism and the microbiota-gut-brain axis. *Neuropharmacology* 112: 399-412.

Kim SW, Fowler J, Kim SW, Hooker JM, Otto N, Win K, et al. (2013) Whole-Body Pharmacokinetics of HDAS Inhibitor Drugs, Butyric Acid, Valproic Acid and 4-Phenylbutyric Acid Measured with Carbon-11 Labeled Analogs by PET. *Nuclear medicine and biology* 40(7):912-8.

Kimura I, Inoue D, Maeda T, Hara T, Ichimura A, Miyauchi S, et al. (2011) Short-chain fatty acids and ketones directly regulate sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor 41 (GPR41). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108(19): 8030-8035.

Klingelhoefer L and Reichmann H (2015) Pathogenesis of Parkinson disease - The gut-brain axis and environmental factors. *Nature Reviews Neurology* 11(11): 625-636.

Kouchaki E, Tamtaji OR, Salami M, Bahmani F, Daneshvar Kakhaki R, Akbari E, et al. (2017) Clinical and metabolic response to probiotic supplementation in patients with multiple sclerosis: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clinical Nutrition* 36(5): 1245-1249.

Kratsman N, Getselter D and Elliott E (2016) Sodium butyrate attenuates social behavior deficits and modifies the transcription of inhibitory/excitatory genes in the frontal cortex of an autism model. *Neuropharmacology* 102: 136-145.

Kunze WA, Mao Y-, Wang B, Huizinga JD, Ma X, Forsythe P, et al. (2009) Lactobacillus reuteri enhances excitability of colonic AH neurons by inhibiting calcium-dependent potassium channel opening. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 13(8 B): 2261-2270.

Le Poul E, Loison C, Struyf S, Springael J-, Lannoy V, Decobecq M-, et al. (2003) Functional characterization of human receptors for short chain fatty acids and their role in polymorphonuclear cell activation. *Journal of Biological Chemistry* 278(28): 25481-25489.

Li N, Ghia J, Wang H, McClemens J, Cote F, Suehiro Y, et al. (2011) Serotonin Activates Dendritic Cell Function in the Context of Gut Inflammation. *The American Journal of Pathology* 178(2): 662-671.

Li W, Dowd SE, Scurlock B, Acosta-Martinez V and Lyte M (2009) Memory and learning behavior in mice is temporally associated with diet-induced alterations in gut bacteria. *Physiology and Behavior* 96(4-5): 557-567.

Liddle RA (2018) Parkinson's disease from the gut. *Brain Research* 1693: 201-206.

Liu J, Sun J, Wang F, Yu X, Ling Z, Li H, et al. (2015) Neuroprotective Effects of Clostridium butyricum against Vascular Dementia in Mice via Metabolic Butyrate. *BioMed Research International* 2015.

Liu Y, Alookaran JJ and Rhoads JM (2018) Probiotics in autoimmune and inflammatory disorders. *Nutrients* 10(10).

Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK and Knight R (2012) Diversity, Stability, and Resilience of the Human Gut Microbiota. *Nature* 489(7415):220-230

Lund ML, Egerod KL, Engelstoft MS, Dmytriyeva O, Theodorsson E, Patel BA, et al. (2018) Enterochromaffin 5-HT cells – A major target for GLP-1 and gut microbial metabolites. *Molecular Metabolism* 11: 70-83.

Lyte M (2013) Microbial Endocrinology in the Microbiome-Gut-Brain Axis: How Bacterial Production and Utilization of Neurochemicals Influence Behavior. *PLoS Pathogens* 9(11).

Mathews CK, Van Holde KE, Appling DR and Anthony-Cahill SJ (2013) *Biochemistry*. Pearson.

Mayer EA, Tillisch K and Gupta A (2015) Gut/brain axis and the microbiota. *Journal of Clinical Investigation* 125(3): 926.

Miller TL and Wolin MJ (1996) Pathways of acetate, propionate, and butyrate formation by the human fecal microbial flora. *Applied and Environmental Microbiology* 62(5): 1589-1592.

Morrison DJ and Preston T (2016) Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes* 7(3): 189-200.

Myint A- and Kim Y- (2014) Network beyond IDO in psychiatric disorders: Revisiting neurodegeneration hypothesis. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 48: 304-313.

Nøhr MK, Egerod KL, Christiansen SH, Gille A, Offermanns S, Schwartz TW, et al. (2015) Expression of the short chain fatty acid receptor GPR41/FFAR3 in autonomic and somatic sensory ganglia. *Neuroscience* 290: 126-137.

Okubo R, Koga M, Katsumata N, Odamaki T, Matsuyama S, Oka M, et al. (2019) Effect of bifidobacterium breve A-1 on anxiety and depressive symptoms in schizophrenia: A proof-of-concept study. *Journal of Affective Disorders* 245: 377-385.

O'Mahony SM, Clarke G, Borre YE, Dinan TG and Cryan JF (2015) Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. *Behavioural Brain Research* 277: 32-48.

Paul Forsythe, Wolfgang Kunze and John Bienenstock (2016) Moody microbes or fecal phrenology: what do we know about the microbiota-gut-brain axis? *BMC Medicine* 14: 58.

Perry RJ, Peng L, Barry NA, Cline GW, Zhang D, Cardone RL, et al. (2016) Acetate mediates a microbiome-brain- β -cell axis to promote metabolic syndrome. *Nature* 534(7606): 213-7.

Petrov VA, Saltykova IV, Zhukova IA, Alifirova VM, Zhukova NG, Dorofeeva YB, et al. (2017) Analysis of gut microbiota in patients with parkinson's disease. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 162(6): 734-737.

Powley TL, Spaulding RA and Haglof SA (2011) Vagal afferent innervation of the proximal gastrointestinal tract mucosa: Chemoreceptor and mechanoreceptor architecture. *Journal of Comparative Neurology* 519(4): 644-660.

Reigstad CS, Salmonson CE, Rainey JF,III, Szurszewski JH, Linden DR, Sonnenburg JL, et al. (2015) Gut microbes promote colonic serotonin production through an effect of short-chain fatty acids on enterochromaffin cells. *FASEB Journal* 29(4): 1395-1403.

Ribeiro, César Augusto João|Leipnitz, Guilhian|Amaral, Alexandre Umpierrez|de Bortoli, Giorgia|Seminotti, Bianca|Wajner, Moacir (2009) Creatine administration prevents Na⁺, K⁺ - ATPase inhibition induced by intracerebroventricular administration of isovaleric acid in cerebral cortex of young rats. *Brain Research* 1262: 81-88.

Rothhammer V and Quintana FJ (2019) The aryl hydrocarbon receptor: an environmental sensor integrating immune responses in health and disease. *Nature Reviews Immunology* 19(3): 184-197.

Rothhammer V, Mascanfroni ID, Bunse L, Takenaka MC, Kenison JE, Mayo L, et al. (2016) Type i interferons and microbial metabolites of tryptophan modulate astrocyte activity and central nervous system inflammation via the aryl hydrocarbon receptor. *Nature Medicine* 22(6): 586-597.

Roy Sarkar S and Banerjee S (2019) Gut microbiota in neurodegenerative disorders. *Journal of Neuroimmunology* 328: 98-104.

Rudzki L, Ostrowska L, Pawlak D, Malus A, Pawlak K, Waszkiewicz N, et al. (2019) Probiotic Lactobacillus Plantarum 299v decreases kynurenine concentration and improves cognitive functions in patients with major depression: A double-blind, randomized, placebo controlled study. *Psychoneuroendocrinology* 100: 213-222.

Rumah KR, Linden J, Fischetti VA and Vartanian T (2013) Isolation of *Clostridium perfringens* Type B in an Individual at First Clinical Presentation of Multiple Sclerosis Provides Clues for Environmental Triggers of the Disease. *PLoS ONE* 8(10).

Sampson TR, Debelius JW, Thron T, Janssen S, Shastri GG, Ilhan ZE, et al. (2016) Gut Microbiota Regulate Motor Deficits and Neuroinflammation in a Model of Parkinson's Disease. *Cell* 167(6): 1480.e12.

Santocchi E, Guiducci L, Fulceri F, Billeci L, Buzzigoli E, Apicella F, et al. (2016) Gut to brain interaction in Autism Spectrum Disorders: A randomized controlled trial on the role of probiotics on clinical, biochemical and neurophysiological parameters. *BMC Psychiatry* 16(183).

Scheperjans F, Aho V, Pereira PAB, Koskinen K, Paulin L, Pekkonen E, et al. (2015) Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype. *Movement Disorders* 30(3): 350-358.

Schmidt K, Cowen PJ, Harmer CJ, Tzortzis G, Errington S and Burnet PWJ (2015) Prebiotic intake reduces the waking cortisol response and alters emotional bias in healthy volunteers. *Psychopharmacology* 232(10): 1793-1801.

Schwarcz R, Bruno JP, Muchowski PJ and Wu H (2012) KYNURENINES IN THE MAMMALIAN BRAIN: WHEN PHYSIOLOGY MEETS PATHOLOGY. *Nature Reviews. Neuroscience* 13(7): 465-477.

Sjögren K, Engdahl C, Henning P, Lerner UH, Tremaroli V, Lagerquist MK, et al. (2012) The gut microbiota regulates bone mass in mice. *Journal of Bone and Mineral Research* 27(6): 1357-1367.

Stephen M Collins, Michael Surette and Premysl Bercik (2012) The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nature Reviews. Microbiology* 10(11): 735.

Stilling RM, van de Wouw M, Clarke G, Stanton C, Dinan TG and Cryan JF (2016) The neuropharmacology of butyrate: The bread and butter of the microbiota-gut-brain axis? *Neurochemistry International* 99: 110-132.

Strandwitz P (2018) Neurotransmitter modulation by the gut microbiota. *Brain Research* 1693: 128-133.

Sweeney MD, Zhao Z, Montagne A, Nelson AR and Zlokovic BV (2018) Blood-Brain Barrier: From Physiology to Disease and Back. *Physiological Reviews* 99(1): 21-78.

Szczesniak O, Hestad KA, Hanssen JF and Rudi K (2016) Isovaleric acid in stool correlates with human depression. *Nutritional Neuroscience* 19(7): 279-283.

The Human Microbiome Project Consortium (2012) Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 486(7402): 207-214.

Tremlett H, Fadrosh DW, Faruqi AA, Hart J, Roalstad S, Graves J, et al. (2016) Gut microbiota composition and relapse risk in pediatric MS: A pilot study. *Journal of the Neurological Sciences* 363: 153-157.

Valladares R, Bojilova L, Potts AH, Cameron E, Gardner C, Lorca G, et al. (2013) *Lactobacillus johnsonii* inhibits indoleamine 2,3-dioxygenase and alters tryptophan metabolite levels in BioBreeding rats. *FASEB Journal* 27(4): 1711-1720.

Voet S, Prinz M and van Loo G (2019) Microglia in Central Nervous System Inflammation and Multiple Sclerosis Pathology. *Trends in Molecular Medicine* 25(2): 112-123.

Voigt J- and Fink H (2015) Serotonin controlling feeding and satiety. *Behavioural Brain Research* 277: 14-31.

Waclawiková B and El Aidy S (2018) Role of microbiota and tryptophan metabolites in the remote effect of intestinal inflammation on brain and depression. *Pharmaceuticals* 11(3).

Wang H and Wang Y (2016) Gut Microbiota-brain Axis. *Chinese Medical Journal* 129(19): 2373-2380.

Wang L, Christophersen CT, Sorich MJ, Gerber JP, Angley MT and Conlon MA (2012) Elevated fecal short chain fatty acid and ammonia concentrations in children with autism spectrum disorder. *Digestive Diseases and Sciences* 57(8): 2096-2102.

Wichers MC and Maes M (2004) The role of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) in the pathophysiology of interferon- α -induced depression. *Journal of Psychiatry and Neuroscience* 29(1): 11-17.

Wikoff WR, Anfora AT, Liu J, Schultz PG, Lesley SA, Peters EC, et al. (2009) Metabolomics analysis reveals large effects of gut microflora on mammalian blood metabolites. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106(10): 3698-3703.

Williamson TP, Johnson DA and Johnson JA (2012) Activation of the Nrf2-ARE pathway by siRNA knockdown of Keap1 reduces oxidative stress and provides partial protection from MPTP-mediated neurotoxicity. *Neurotoxicology* 33(3): 272-279.

Yano JM, Yu K, Donaldson GP, Shastri GG, Ann P, Ma L, et al. (2015) Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis. *Cell* 161(2): 264-276.